

PCT/JP 2004/005585

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

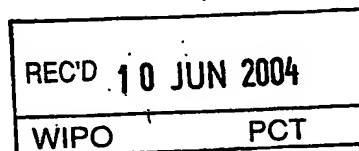
19.4.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 4 月 2 1 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 1 1 6 2 8 0
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 1 1 6 2 8 0]



出 願 人 独立行政法人産業技術総合研究所
Applicant(s):

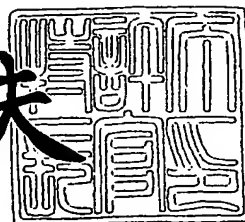
BEST AVAILABLE COPY

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 5 月 2 7 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号 出証特 2 0 0 4 - 3 0 4 5 1 1 6

【書類名】 特許願

【整理番号】 341H03001

【提出日】 平成15年 4月21日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12N 15/09

【発明の名称】 *R h o d o c o c c u s* 属細菌における組換えタンパク
質を生産する方法

【請求項の数】 9

【発明者】

 【住所又は居所】 北海道札幌市豊平区月寒東 2 条 1 7 丁目 2 - 1 独立行
政法人産業技術総合研究所 北海道センター内

 【氏名】 中島 信孝

【発明者】

 【住所又は居所】 北海道札幌市豊平区月寒東 2 条 1 7 丁目 2 - 1 独立行
政法人産業技術総合研究所 北海道センター内

 【氏名】 田村 具博

【特許出願人】

 【識別番号】 301021533

 【氏名又は名称】 独立行政法人産業技術総合研究所

【代理人】

 【識別番号】 100091096

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 平木 祐輔

【選任した代理人】

 【識別番号】 100118773

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 藤田 節

【選任した代理人】

【識別番号】 100111741

【弁理士】

【氏名又は名称】 田中 夏夫

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 Rhodococcus属細菌における組換えタンパク質を生産する方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 TipA遺伝子プロモーターの-10領域配列に変異を導入したプロモーターであって、チオストレプトン非依存的に構成的に下流に存在する遺伝子を発現し得る変異TipA遺伝子プロモーターの有する塩基配列からなるDNA。

【請求項 2】 -10領域配列の変異が、CAGCGT配列のTATAAT配列への変異である請求項 1 記載のDNA。

【請求項 3】 配列番号 107 で表される塩基配列を有する、請求項 2 記載のDNA。

【請求項 4】 外来遺伝子を構成的に発現するためのプロモーター配列が請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載のDNAの有する塩基配列であって、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクロニング部位配列を含む、Rhodococcus属細菌用構成型発現ベクター。

【請求項 5】 配列番号 101 に表される塩基配列を有するpNit-RT1、配列番号 102 に表される塩基配列を有するpNit-RT2、配列番号 105 に表される塩基配列を有するpNit-RC1、配列番号 106 に表される塩基配列を有するpNit-RC2、配列番号 99 に表される塩基配列を有するpNit-QT1、配列番号 100 に表される塩基配列を有するpNit-QT2、配列番号 103 に表される塩基配列を有するpNit-QC1、配列番号 104 に表される塩基配列を有するpNit-QC2、からなる群から選択される請求項 4 記載のRhodococcus属細菌用構成型発現ベクター。

【請求項 6】 Rhodococcus属細菌がR. erythropolis、R. fasciansおよびR. opacusからなる群から選択される、請求項 4 または 5 に記載の発現ベクター。

【請求項 7】 さらに大腸菌用プラスミドの自律複製に必要なDNA領域を含み、大腸菌中で複製可能な請求項 4 から 6 のいずれか 1 項に記載の発現ベクター。

【請求項 8】 請求項 4 から 7 のいずれか 1 項に記載の発現ベクターを含む形質転換体。

【請求項 9】 請求項 4 から 7 のいずれか 1 項に記載の発現ベクターを用い

て4℃から35℃の温度で組換えタンパク質を生産する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、Rhodococcus属細菌中で外来遺伝子を発現し得る発現ベクターに関する。

【0002】

また、本発明は、宿主細胞中で組換えタンパク質を発現することができる誘導型発現ベクターおよび構成型発現ベクター、および該ベクターを用いて組換えタンパク質を発現させる方法に関する。さらに、本発明はRhodococcus属細胞内で異なるベクター上にコードされる複数の遺伝子を同時に共発現する方法に関する。

【0003】

【従来の技術】

現在、真核生物由来のタンパク質を組換え体として大量調製するためには大腸菌を宿主とした発現システムが広く用いられている。これは該システムが扱いが容易でかつ最も研究が進んでいるからである (Weickert et al., Curr. Opin. Biotechnol. 7: 494-499 [1996])。

【0004】

一方、本発明者は以前にRhodococcus erythropolisも組換えタンパク質生産の宿主として用いることができることを示した (特願2002-235008)。R. erythropolisは4℃から35℃まで増殖可能な放線菌の一種で、この菌を宿主とした発現システムの最大の特徴は4℃など10℃以下での組換えタンパク質生産が可能な点である。他の大腸菌やバチルス属細菌、酵母菌、Sf9昆虫細胞 (Cereghino and Cregg, Curr. Opin. Biotechnol. 10 422-427 [1999]、Miller, Curr. Opin. Genet. Dev. 3 97-101 [1993]) を用いたシステムでは、10℃以下での組換えタンパク質生産は極めて困難である。10℃以下で組換えタンパク質を生産させることで、それまでは生産困難だったタンパク質、例えば宿主細胞の増殖を阻害するものや30℃前後では不溶化するもの、低温に適応した生物由来のタンパク質

、などを生産することが可能になった。

【0005】

本発明者等は、pTipベクターと呼ばれる一群のRhodococcus属細菌用発現ベクターを構築し、組換えタンパク質生産に用いていた（特願2002-235008）。これらベクターは、抗生物質チオストレプトンでその発現が誘導されるTipA遺伝子のプロモーターを含み、その下流に外来遺伝子（発現させるべき遺伝子）をクローニングするためのマルチクローニング部位（MCS）を含む。従ってpTipベクターは、チオストレプトン誘導型発現ベクターであり、これら発現ベクターで形質転換されたRhodococcus属細菌においては、チオストレプトンが培養液中に添加されたときにのみ、外来タンパク質の生産が誘導される。

【0006】

【非特許文献1】

Weickert et al., Curr. Opin. Biotechnol. 7: 494-499 [1996]

【非特許文献2】

Cereghino and Cregg, Curr. Opin. Biotechnol. 10 422-427 [1999]

【非特許文献3】

Miller, Curr. Opin. Genet. Dev. 3 97-101 [1993]

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

上記のように本発明者らは、pTipベクターと呼ばれる一群のRhodococcus属細菌用誘導型発現ベクターを構築し、組換えタンパク質生産に用いていたが、未だ2点開発すべき点が残されていた。

【0008】

第1に、前記pTipベクターはすべて、Rhodococcus属細菌内で自律複製するために必要なDNA領域（複製起点等）が一つの内在性プラスミドに由来していたために、別々の外来遺伝子を含む複数の発現ベクターを同時に、安定に、Rhodococcus属細菌内に共存させることは困難であった。これは同一の自律複製起点を持つ異種プラスミドが細菌内で共存できない、プラスミド不和合性（plasmid incompatibility）と呼ばれる現象によるもので、多くの細菌でこの現象が報告され

ている (Novick, Microbiol. Rev. 51 381-395 [1987])。異種プラスミドを単一の細菌の菌体内で共存させることが出来れば、複数の組換えタンパク質を同時に生産することが出来る。例えば、20Sプロテアソームと呼ばれるタンパク質複合体は α サブユニットと β サブユニットの2つのポリペプチドから構成されており、機能的な20Sプロテアソーム複合体を組換え体として生産する場合には、これら2つのポリペプチドを共発現させなければならない。2つのポリペプチドを単一細胞内で共発現させる際には、1つの発現ベクターに複数の外来遺伝子を導入することによって、達成することも出来るが、ベクターのサイズが大きくなったり、制限酵素部位の都合上クローニング過程が複雑になったり、不便であることが多い。現在までRhodococcus属細菌において、複数の発現ベクターを用いた組換えタンパク質の共発現系はW002/055709に記載されたものが存在した。

【0009】

第2に、Rhodococcus属細菌の研究のためには、誘導型発現ベクターのみならず、構成型発現ベクターも重要なツールであるが、構成型発現ベクターが未開発であったことである。なお、既知のRhodococcus属細菌における構成型発現ベクターとしては、変異型ニトリルヒドラーゼ遺伝子プロモーターを用いたものや(特開平9-28382、特開平10-248578)、rrnプロモーターを用いたものが知られている (Matsui et al., Curr. Microbiol. 45 240-244 [2002])。

【0010】

Rhodococcus属細菌の中には、PCB (polychlorinated biphenyl) や農薬等、様々な難分解性化合物を分解する菌株が多数知られており (バイオレメディエーション) (Bell et al., J. Appl. Microbiol. 85 195-210 [1998])、また、ある菌株はアクリルアミド等有用な化合物を菌体内に蓄積させる事も知られていて、すでに工業生産に利用されている (バイオプロセス、バイオリアクター) (Yamada et al., Biosci. Biotech. Biochem. 60 1391-1400 [1996])。従って、上述した2点の改良点が克服されれば、組換えタンパク質生産時のみならず、バイオレメディエーション、バイオプロセスの研究時においてもRhodococcus属細菌用発現ベクターの利用性が増すと考えられる。

【0011】

・【課題を解決するための手段】

まず、プラスミド不和合性の問題を解決するためには、本発明者らが先に構築したpTipベクターに用いていたRhodococcus属細菌内で自律複製するために必要なDNA領域とは配列が違う同等の配列を新たに分離し、利用する必要がある。前記pTipベクターでは全てR. erythropolis JCM2895株から分離した内在性プラスミドpRE2895 (5.4キロベースペア；以下kbと略)のうち、自律複製に必要最小限なRepAB遺伝子を含む領域 (1.9 kb) を用いていた。従って、他のR. erythropolis株からDNA配列の異なる内在性プラスミドを分離し、新規発現ベクターを構築することとした。また、Rhodococcus属細菌の形質転換体選択マーカーとして、前記pTipベクターにおいてはテトラサイクリン耐性遺伝子のみ開発していたが、複数のプラスミドで形質転換するためには、別の抗生物質に対する耐性遺伝子を新規に開発する必要がある。本発明者は、R. erythropolis DSM 313株がクロラムフェニコールに対して耐性であることを見出し、耐性を付与している遺伝子を分離し、利用することとした。

【0012】

さらに、構成型発現ベクター開発のため、TipA遺伝子プロモーターに変異を導入し、構成的に、即ち、チオストレプトン非依存的に、外来遺伝子を発現せしめる変異体を作製することとした。

【0013】

このようにして、pRE2895が有する自律複製に必要な領域および誘導型のTipA遺伝子プロモーターを有する前記pTipベクターの他に、新たに異なる自律複製するために必要なDNA領域を有するベクターであって、TipA遺伝子プロモーターを有しており誘導発現が可能なベクター、前記pTipベクターとは異なる自律複製するために必要なDNA領域を有するベクターであって、TipA遺伝子プロモーターに変異を導入したプロモーターを有しており構成的に発現が可能なベクター、および前記pTipベクターと同じ自律複製するために必要なDNA領域およびTipA遺伝子プロモーターに変異を導入したプロモーターを有しており構成的に発現が可能なベクターを構築した。これらのベクターのうち自律複製するために必要なDNA領域が異なる2種類のベクターであって、それぞれ異なる外来タンパク質をコード

する遺伝子を含むベクターで一つの宿主を共形質転換することが可能であり、該共形質転換した宿主で該異なる外来タンパク質を同時に共発現させることが可能である。

【0014】

すなわち、本発明は以下の通りである。

- [1] TipA遺伝子プロモーターの-10領域配列に変異を導入したプロモーターであって、チオストレプトン非依存的に構成的に下流に存在する遺伝子を発現し得る変異TipA遺伝子プロモーターの有する塩基配列からなるDNA、
- [2] -10領域配列の変異が、CAGCGT配列のTATAAT配列への変異である[1]のDNA、
- [3] 配列番号107で表される塩基配列を有する、[2]のDNA、
- [4] 外来遺伝子を構成的に発現するためのプロモーター配列が[1]から[3]のいずれかのDNAの有する塩基配列であって、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクロニング部位配列を含む、Rhodococcus属細菌用構成型発現ベクター、
- [5] 配列番号101に表される塩基配列を有するpNit-RT1、配列番号102に表される塩基配列を有するpNit-RT2、配列番号105に表される塩基配列を有するpNit-RC1、配列番号106に表される塩基配列を有するpNit-RC2、配列番号99に表される塩基配列を有するpNit-QT1、配列番号100に表される塩基配列を有するpNit-QT2、配列番号103に表される塩基配列を有するpNit-QC1、配列番号104に表される塩基配列を有するpNit-QC2、からなる群から選択される[4]のRhodococcus属細菌用構成型発現ベクター、
- [6] Rhodococcus属細菌がR. erythropolis、R. fasciansおよびR. opacusからなる群から選択される、[4]または[5]の発現ベクター、
- [7] さらに大腸菌用プラスミドの自律複製に必要なDNA領域を含み、大腸菌中で複製可能な[4]から[6]のいずれかの発現ベクター、
- [8] [4]から[7]のいずれかの発現ベクターを含む形質転換体、および
- [9] [4]から[7]のいずれかの発現ベクターを用いて4℃から35℃の温度で組換えタンパク質を生産する方法。

さらに、本発明は以下の通りである。

- [10] Rhodococcus属細菌から単離された、ローリングサークル型の複製様式で複製し得る環状プラスミド、
- [11] Rhodococcus属細菌から単離された、ローリングサークル型の複製様式に必須なRep遺伝子、2本鎖複製起点領域DSO (double-stranded origin) および1本鎖複製起点領域SSO (single-stranded origin) を有する[10]の環状プラスミド、
- [12] ローリングサークル型の複製様式に必須なDNAの塩基配列が配列番号90に表される塩基配列の第3845位から第5849位の塩基配列である、[11]の環状プラスミド、
- [13] 配列番号90に表される塩基配列を有するDNAまたは配列番号90に表される塩基配列を有するDNAに相補的な配列を有するDNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAを有する[10]から[12]のいずれかのプラスミド、
- [14] [10]から[12]のいずれかの環状プラスミドを含む形質転換体、
- [15] ローリングサークル型の複製様式で複製し得るベクターであって、Rhodococcus属細菌中で外来遺伝子を4℃から35℃の温度条件下で発現しうる発現ベクター、
- [16] Rhodococcus属細菌から単離された、ローリングサークル型の複製様式に必須なRep遺伝子、2本鎖複製起点領域DSO (double-stranded origin) および1本鎖複製起点領域SSO (single-stranded origin) を有する[15]の発現ベクター、
- [17] ローリングサークル型の複製様式に必須なDNAの塩基配列が配列番号90に表される塩基配列の第3845位から第5849位の塩基配列である、[16]の発現ベクター、
- [18] 外来遺伝子を発現誘導するための誘導型プロモーター配列、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクロニング部位配列を含む[15]から[17]のいずれかの発現ベクター、
- [19] 発現誘導のための誘導型プロモーターがTipA遺伝子プロモーターで、誘

導物質がチオストレプトンである、[18]の発現ベクター、

[20] プロモーターの塩基配列が[1]から[3]のいずれかのDNAの有する塩基配列からなる[4]の発現ベクター、

[21] 配列番号93に表される塩基配列を有するpTip-RT1、配列番号94に表される塩基配列を有するpTip-RT2、配列番号97に表される塩基配列を有するpTip-RC1、配列番号98に表される塩基配列を有するpTip-RC2からなる群から選択される[15]から[19]のいずれかのRhodococcus属細菌用誘導型発現ベクター、

[22] Rhodococcus属細菌中で外来遺伝子を構成的に発現し得る発現ベクターであって、プラスミドpRE2585由来のRhodococcus属細菌中でのプラスミドの自律複製に必要なDNA配列および[1]から[3]のいずれかのプロモーター配列DNAを含む、Rhodococcus属細菌中で4℃から35℃の温度条件下で外来遺伝子を構成的に発現し得る発現ベクター、

[23] プラスミドpRE2585由来のRhodococcus属細菌中でのプラスミドの自律複製に必要なDNA配列がRepAおよびRepB遺伝子を含む1.9kbの領域のDNA配列である[22]の発現ベクター、

[24] 構成型プロモーター配列の下流に、さらにリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列を含む[22]または[23]の発現ベクター、

[25] 配列番号99に表される塩基配列を有するpNit-QT1、配列番号100に表される塩基配列を有するpNit-QT2、配列番号103に表される塩基配列を有するpNit-QC1、配列番号104に表される塩基配列を有するpNit-QC2、からなる群から選択される[22]から[24]のいずれかのRhodococcus属細菌用構成型発現ベクター、

[26] 互いにプラスミド不和合性を起こさない少なくとも2種類のRhodococcus属細菌由来のプラスミドを含むRhodococcus属細菌であって、少なくとも2種類のプラスミドが、プラスミドの自律複製に必要なDNA配列として、それぞれローリングサークル型複製様式をもつDNA配列と、pRE2585由来のプラスミドの自律複製に必要なDNA配列を有する、Rhodococcus属細菌、

[27] 互いにプラスミド不和合性を起こさない少なくとも2種類のRhodococcus属細菌由来の発現プラスミドベクターであり外来タンパク質をコードする遺伝子を含む発現プラスミドベクターを含むRhodococcus属細菌であって、少なくとも2種類のプラスミドベクターが、プラスミドの自律複製に必要なDNA配列として、それぞれRhodococcus属細菌由来のローリングサークル型複製様式をもつDNA配列と、pRE2585由来のプラスミドの自律複製に必要なDNA配列を有し、外来タンパク質をコードする遺伝子を4℃から35℃の温度条件下で共発現し得るRhodococcus属細菌、

[28] 2種類のプラスミドベクターが外来タンパク質を生産せしめるためのプロモーター配列、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクロニング部位配列、をそれぞれ全て含む、[27]のRhodococcus属細菌、

[29] 少なくとも2種類のプラスミドベクターの一方が、[4]、[5]、[15]～[19]、[20]および[21]のいずれかのベクターであり、もう一方が、[22]から[25]のいずれかのベクターもしくは[22]から[25]のベクターにおいて少なくともプロモーターを誘導型プロモーターであるTipA遺伝子プロモーターに置換した誘導発現し得るベクターである、[27]または[28]のRhodococcus属細菌、

[30] 少なくとも2種類のプラスミドベクターの一方が、[4]、[5]、[15]～[19]、[20]および[21]のいずれかのベクターであり、もう一方が、配列番号49に表される塩基配列を有するpTip-NH1、配列番号50に表される塩基配列を有するpTip-NH2、配列番号51に表される塩基配列を有するpTip-CH1、配列番号52に表される塩基配列を有するpTip-CH2、配列番号53に表される塩基配列を有するpTip-LNH1、配列番号54に表される塩基配列を有するpTip-LNH2、配列番号55に表される塩基配列を有するpTip-LCH1、配列番号56に表される塩基配列を有するpTip-LCH2、配列番号91に表される塩基配列を有するpTip-QT1、配列番号92に表される塩基配列を有するpTip-QT2、配列番号95に表される塩基配列を有するpTip-QC1、配列番号96に表される塩基配列を有するpTip-QC2、pTip-CH1.1、pTip-CH2.1、pTip-LCH1.1、pTip-LCH2.1、[22]から[25]のい

いずれかのベクターまたは[22]から[25]のいずれかのベクターにおいて少なくともプロモーターを誘導型プロモーターであるTipA遺伝子プロモーターに置換した誘導発現し得るベクターからなる群から選択されるベクターである、[27]から[29]のいずれかのRhodococcus属細菌、

[31] ローリングサークル型の複製様式に必須なDNA配列が配列番号90に表される塩基配列の第3845位から第5849位のDNAであり、pRE2585由来のプラスミドの自律複製に必要なDNA配列がRepAおよびRepB遺伝子を含む1.9 kbの領域のDNAである[26]から[30]のいずれかのRhodococcus属細菌、

[32] 互いにプラスミド不和合性を起こさない少なくとも2種類のRhodococcus属細菌由来の発現プラスミドベクターであり外来タンパク質をコードする遺伝子を含む発現プラスミドベクターを含むRhodococcus属細菌であって、少なくとも2種類のプラスミドベクターが、プラスミドの自律複製に必要なDNA配列として、それぞれRhodococcus属細菌由来のローリングサークル型複製様式をもつDNA配列と、pRE2585由来のプラスミドの自律複製に必要なDNA配列を有する少なくとも2種類のベクターでRhodococcus属細菌を形質転換し、培養しそれぞれの発現ベクターが含む外来タンパク質をコードする遺伝子を4℃から35℃の温度条件下で共発現させて該外来タンパク質を産生させる方法、

[33] 2種類のプラスミドベクターが外来タンパク質を生産せしめるためのプロモーター配列、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクロニング部位配列、をそれぞれ全て含む、[32]の方法、

[34] 少なくとも2種類のプラスミドベクターの一方が、[4]、[5]、[15]～[19]、[20]および[21]のいずれかのベクターであり、もう一方が、配列番号49に表される塩基配列を有するpTip-NH1、配列番号50に表される塩基配列を有するpTip-NH2、配列番号51に表される塩基配列を有するpTip-CH1、配列番号52に表される塩基配列を有するpTip-CH2、配列番号53に表される塩基配列を有するpTip-LNH1、配列番号54に表される塩基配列を有するpTip-LNH2、配列番号55に表される塩基配列を有するpTip-LCH1、配列番号56に表される塩基配列を有するpTip-LCH2、配列番号91に表される塩基配列を有するpTip-QT1

、配列番号 92 に表される塩基配列を有する pTip-QT2、配列番号 95 に表される塩基配列を有する pTip-QC1、配列番号 96 に表される塩基配列を有する pTip-QC2、pTip-CH1.1、pTip-CH2.1、pTip-LCH1.1、pTip-LCH2.1、[22] から [25] のいずれかのベクターまたは [22] から [25] のいずれかのベクターにおいて少なくともプロモーターを誘導型プロモーターである TipA 遺伝子プロモーターに置換した誘導発現し得るベクターからなる群から選択されるベクターである、[32] から [34] のいずれかの方法、

[35] ローリングサークル型の複製様式に必須な DNA の塩基配列が配列番号 90 に表される塩基配列の第 3845 位から第 5849 位の塩基配列であり、pRE2585 由来のプラスミドの自律複製に必要な DNA 配列が RepA および RepB 遺伝子を含む 1.9 kb の領域の DNA である [32] から [34] のいずれかの方法。

以下、本発明を詳細に説明する。

【0015】

【発明の実施の形態】

本発明は、Rhodococcus 属細菌から単離された、ローリングサークル型の複製様式で複製し得る環状プラスミドおよび該環状プラスミドから構築された発現ベクターを包含する。ローリングサークル型の複製様式とは、二本鎖環状 DNA の複製の様式であり、特異的エンドヌクレアーゼの作用により特定の DNA 鎖上の特定の位置にニックが入り、そのニックの 3'-OH 端から DNA 合成が開始され、ニックの入っていない環状 DNA 鎖を鋳型として一回りする形で進む複製様式をいう。このような複製様式をとるためには、ローリングサークル型の複製様式に必要な DNA 領域が必要であり、例えば Rep 遺伝子が挙げられる。さらに、2 本鎖複製起点領域 DS0 (double-stranded origin) および 1 本鎖複製起点領域 SS0 (single-stranded origin) が必要である。従って、本発明のローリングサークル型の複製様式で複製し得る環状プラスミドおよび該環状プラスミドから構築された発現ベクターは、ローリングサークル型の複製様式に必要な DNA 領域、すなわち Rep 遺伝子、2 本鎖複製起点領域 DS0 (double-stranded origin) および 1 本鎖複製起点領域 SS0 (single-stranded origin) を含むプラスミドおよび発現ベクターである。このようなプラスミドは、Rhodococcus 属細菌から単離することができ例えば、Rho

dococcus erythropolis DSM8424株から単離したpRE8424が挙げられ、その全長配列を配列番号90に示す。配列番号90中、第3845位から5849位までがローリングサークル型の複製様式に必要なDNA領域、すなわちRep遺伝子のDNA、2本鎖複製起点領域DSO (double-stranded origin) および1本鎖複製起点領域SSO (single-stranded origin) を表す。

【0016】

本発明は、配列番号90で表されるプラスミドを構成するDNAに相補的なDNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAから構成されるプラスミドであって、ローリングサークル型の複製様式で複製し得るプラスミドも包含する。ここで、ストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が500~1000 mM、好ましくは700 mMであり、温度が50~70 °C、好ましくは65 °Cでの条件をいう。このようなプラスミドはその全長塩基配列が配列番号90で表される塩基配列とBLAST等（例えば、デフォルトすなわち初期設定のパラメータを用いて）を用いて計算したときに、90%以上、好ましくは95%以上、さらに好ましくは98%以上の相同性を有する塩基配列からなるプラスミドである。

【0017】

該プラスミドから得られたローリングサークル型の複製様式に必要なDNA領域であるRep遺伝子、2本鎖複製起点領域DSO (double-stranded origin) および1本鎖複製起点領域SSO (single-stranded origin) を含み、さらにプロモーター配列、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列を含む発現ベクターも本発明に包含される。さらに、外来遺伝子および転写終結配列を含んでいてもよく、プロモーター活性を有するDNA配列、外来遺伝子および転写終結配列は発現カセット (Expression cassette) を構成する。ここで、プロモーター配列は薬剤等の誘導因子によりその下流に導入した外来遺伝子を誘導的に発現し得るプロモーターも、誘導因子に依存することなく構成的に外来遺伝子を発現し得るプロモーターも含まれる。前者の誘導的に外来遺伝子を発現し得るプロモーターとして、例えばTipA遺伝子プロモーターが挙げられ、チオストレプトンの存在下でその下流の外来遺伝子を誘導的に発現する。さらに、本発明のベクターは、TipAタンパク質をコードするTi

pA遺伝子、TipA遺伝子の発現を誘導するThcA遺伝子プロモーター等の適当なプロモーターを含んでいてもよい。TipA遺伝子およびTipA遺伝子発現用プロモーターは誘導カセット (Inducer cassette) を構成する。宿主細胞がRhodococcus属に属する細菌である場合、該細菌はチオストレプトンに対して感受性であるため、チオストレプトンに対しての耐性を付与するチオストレプトン耐性遺伝子等を組込む。さらに、TipA遺伝子プロモーターはTipA-LG10プロモーター等のその配列を改変させたものでもよい。TipA遺伝子プロモーターの配列は図12に示される。

【0018】

また、後者の構成的に外来遺伝子を発現し得るプロモーターとして、前記TipA遺伝子プロモーターを改変したプロモーターが挙げられる。このような改変TipA遺伝子プロモーターとしては、TipA遺伝子プロモーターの-10領域配列に変異を導入したプロモーターが挙げられ、具体的には、-10領域配列の変異が、CAGCGT配列のTATAAT配列への変異であるプロモーターが挙げられる。さらに、このようなプロモーターの一例として、図19に示す配列に含まれるプロモーターが例示できる。

【0019】

また、図12に示すプロモーターの配列を有するDNAまたは図19に示す配列に含まれるプロモーターの配列を有するDNAに相補的なDNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAからなり、それぞれのプロモーター活性と同等の活性を有するポリヌクレオチドもプロモーターとして用いることができる。ここで、ストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が500~1000 mM、好ましくは700 mMであり、温度が50~70 °C、好ましくは65 °Cでの条件をいう。このようポリヌクレオチドはその全長塩基配列が上記プロモーターの塩基配列とBLAST等（例えば、デフォルトすなわち初期設定のパラメータを用いて）を用いて計算したときに、90%以上、好ましくは95%以上、さらに好ましくは98%以上の相同性を有する塩基配列からなるプロモーターである。

【0020】

本発明は、さらに前記ベクターにさらに大腸菌用プラスミドの自律複製に必要

なDNA領域ならびに大腸菌の形質転換体選択マーカを含むベクターも含まれ、このようなベクターはRhodococcus属細菌と大腸菌とのシャトルベクターとして利用できる。この際、大腸菌では構成型発現ベクターとして利用することができる。大腸菌用プラスミドの自律複製に必要なDNA領域としてはColE1、ColE2配列等、大腸菌の形質転換体選択マーカとしてはアンピシリン耐性遺伝子などの公知のものを使用することができ、これらは公知の大腸菌用クローニングベクターから得ることができる。

【0021】

TipA遺伝子プロモーター、ローリングサークル型の複製様式に必要なDNA領域、2本鎖複製起点領域DSO (double-stranded origin) および1本鎖複製起点領域SSO (single-stranded origin) を含み、さらに前記プロモーター配列の下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列および大腸菌用プラスミドの自律複製に必要なDNA領域を含むRhodococcus用発現ベクターとして、配列番号93に表される塩基配列を有するpTip-RT1、配列番号94に表される塩基配列を有するpTip-RT2、配列番号97に表される塩基配列を有するpTip-RC1、配列番号98に表される塩基配列を有するpTip-RC2が例示できる。また、TipA遺伝子プロモーターの代わりにTipA遺伝子プロモーターの-10領域配列の変異がCAGCGT配列のTATAAT配列への変異であるプロモーターを有するベクターとしては、配列番号101に表される塩基配列を有するpNit-RT1、配列番号102に表される塩基配列を有するpNit-RT2、配列番号105に表される塩基配列を有するpNit-RC1、配列番号106に表される塩基配列を有するpNit-RC2が例示できる。これらの、配列番号で表される塩基配列からなる構成するDNAに相補的なDNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAから構成されるベクターであって、外来遺伝子を宿主微生物中で発現し得るベクターも本発明に包含される。ここで、ストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が500~1000 mM、好ましくは700 mMであり、温度が50~70℃、好ましくは65℃での条件をいう。このようなベクターはその全長塩基配列が上記ベクターの配列番号で表される塩基配列とBLAST等（例えば、デフォルトすなわち初期設定のパラメータを用いて）を用いて計算したときに、90%以上、

好ましくは95%以上、さらに好ましくは98%以上の相同性を有する塩基配列からなるベクターである。配列番号で示される以下のベクターについても同様である。

【0022】

本発明は、さらに上記のローリングサークル型の複製様式に必要なDNA領域 (Rep遺伝子、DSOおよびSSO) ではなく、他の自律複製に必要なDNA領域を含む発現ベクターをも包含する。このように複製に必要なDNA領域が異なる発現ベクター同士は、一つの宿主に同時に導入し、安定に保持することができる。他の自律複製に必要なDNA領域として例えば、RepA遺伝子およびRepB遺伝子が挙げられる。RepA遺伝子およびRepB遺伝子を含むDNA領域は、Rhodococcus属細菌、例えばR. erythropolis JCM2895株から分離した内在性プラスミドpRE2895から単離することができる。RepA遺伝子およびRepB遺伝子を含む1.9 kbの領域は、配列番号49の第6233位から第8166位であり、このうちRepA ORFは6765位から7652位、RepB ORFは7652から7936位である。また、RepA遺伝子およびRepB遺伝子を含むDNA領域は後述の参考例に記載のベクターpHN129の制限地図 (図1) を参照すれば得ることができる。また、配列番号49の第6233位から第8166位で表される塩基配列からなるDNAに相補的なDNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAであって、ベクターに自律複製能を付与するDNAも本発明のRepA遺伝子およびRepB遺伝子を含む1.9 kbの領域として用いることができる。ここで、ストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が500~1000 mM、好ましくは700 mMであり、温度が50~70 °C、好ましくは65 °Cでの条件をいう。このようなDNAはその全長塩基配列が配列番号49の第6233位から第8166位で表される塩基配列とBLAST等 (例えば、デフォルトすなわち初期設定のパラメータを用いて) を用いて計算したときに、90%以上、好ましくは95%以上、さらに好ましくは98%以上の相同性を有する塩基配列からなるDNAである。この自律複製に必要なDNA領域およびTipA遺伝子プロモーターの-10領域配列がCAGCGT配列のTATAAT配列へ変異したプロモーター、さらにその下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクロニング部位配列を含む発現ベクターを含む発現ベクターはマルチクロニング部位に組込まれた外来遺伝子を誘導因子に依存す

ることなく構成的に発現することができる。このような発現ベクターとして、配列番号 99 に表される塩基配列を有する pNit-QT1、配列番号 100 に表される塩基配列を有する pNit-QT2、配列番号 103 に表される塩基配列を有する pNit-QC1、配列番号 104 に表される塩基配列を有する pNit-QC2、からなる群から選択される Rhodococcus 属細菌用構成型発現ベクターが挙げられ、さらにチオストレプトンの存在下で、導入された外来遺伝子を誘導的に発現し得る配列番号 49 に表される塩基配列を有する pTip-NH1、配列番号 50 に表される塩基配列を有する pTip-NH2、配列番号 51 に表される塩基配列を有する pTip-CH1、配列番号 52 に表される塩基配列を有する pTip-CH2、配列番号 53 に表される塩基配列を有する pTip-LNH1、配列番号 54 に表される塩基配列を有する pTip-LNH2、配列番号 55 に表される塩基配列を有する pTip-LCH1、配列番号 56 に表される塩基配列を有する pTip-LCH2、pTip-CH1.1、pTip-CH2.1、pTip-LCH1.1 および pTip-LCH2.1 の誘導性プロモーターを前記の TipA 遺伝子プロモーターの -10 領域配列の変異が CAGCGT 配列の TATAAT 配列への変異であるプロモーターに置換したベクターが挙げられる。なお、誘導型発現ベクターは TipA 遺伝子もしくはその変異体および TipA 遺伝子発現用プロモーターを含む誘導カセットならびにチオストレプトン耐性遺伝子も含んでいる必要がある。

【0023】

本発明の上記発現ベクターに外来遺伝子を組み込み、宿主微生物に導入し該宿主微生物を培養することにより、該外来遺伝子を発現させることができる。発現ベクターへの外来遺伝子の組み込みは公知の遺伝子工学的手法により行うことができる。宿主微生物への発現ベクターの導入も公知の手法で行うことができる。さらに、宿主微生物の培養も、それぞれの微生物に適合した培地を用いて適当な条件下で培養を行えばよい。ベクターを組み込む宿主生物としては、Rhodococcus 属細菌および大腸菌が挙げられる。ここで、外来遺伝子とは、本発明のベクターを用いて発現させようとする標的タンパク質をコードする遺伝子であり、宿主細胞以外の生物由来のタンパク質をコードする遺伝子をいう。本発明のベクターを用いて発現産生させるタンパク質は限定されず、いかなるタンパク質も対象となり得る。本発明の発現ベクターを導入する宿主生物が低温で増殖可能な微生物、例え

ば *R. erythropolis*、*R. fascians* および *R. opacus* 等の *Rhodococcus* 属細菌である場合、通常の微生物の増殖に適した温度条件、即ち約 15℃ を超える中高温で発現させることが困難であるかまたは不可能なタンパク質を発現産生させることができる。このようなタンパク質として、宿主細胞の至適生育温度範囲内の温度で発現できないが同一のまたは異なる種類の宿主細胞を用いた場合にその微生物の好適生育温度範囲内の温度よりも低温で発現できるタンパク質、宿主微生物の好適生育温度範囲内の温度で発現させた場合に該宿主細胞にとって致死性となるが同一のまたは異なる種類の宿主細胞の好適生育温度範囲内の温度よりも低温ではそれらの宿主細胞に致死性でないタンパク質、宿主細胞の好適生育温度範囲内の温度で発現させた場合に該宿主細胞の増殖を阻害するが同一のまたは異なる種類の宿主細胞の好適生育温度範囲内の温度よりも低温ではそれらの宿主細胞の増殖を阻害しないタンパク質、宿主細胞の好適生育温度範囲内の温度で発現させた場合に封入体と呼ばれる不活性なタンパク質の凝集を作るが同一のまたは異なる種類の宿主細胞の好適生育温度範囲内の温度よりも低温でそれらの宿主細胞で発現させた場合に活性のある可溶性タンパク質となるタンパク質、好適生育温度範囲が 20℃ 以下である好冷菌、低温環境下に生存する変温動物、低温環境下に生存する植物由来のタンパク質が挙げられる。

【0024】

発現ベクターが含んでいるプロモーターが誘導型のプロモーターの場合、誘導物質の宿主微生物の培養系に添加することにより、外来遺伝子の発現産生を誘導することができる。本発明の発現ベクターが含む誘導型プロモーターとして、*Ti* *pA* 遺伝子プロモーターが挙げられ、該遺伝子プロモーターを含んでいる場合、チオストレプトンの添加により発現産生が誘導される。この際チオストレプトンは、終濃度 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上、好ましくは 1 $\mu\text{g/ml}$ 以上となるように添加すればよい。ただし、10 $\mu\text{g/ml}$ を越えると生育が悪くなる。また、本発明の発現ベクターが構成型のプロモーターを含んでいる場合は、誘導物質を添加することなく外来遺伝子が発現産生される。

【0025】

本発明の発現ベクターのうち、自律複製に必要な DNA が互いに異なる発現ベク

ターは同一の微生物細胞に同時に共形質転換することにより、該細胞内で安定に維持され、それぞれのベクターが含んでいる外来遺伝子を同時に発現產生させることができる。この場合、それぞれのベクターが含んでいる外来遺伝子は同じタンパク質をコードするものでも、異なるタンパク質をコードするものでもよい。例えば、2つのサブユニットからなるタンパク質のそれぞれのサブユニットを自律複製に必要なDNAが互いに異なる別々の発現ベクターに組込んで、同一の微生物細胞に導入することにより、一つの細胞内で各サブユニットが同時に発現され、サブユニット同士が会合して完全なタンパク質が產生される。この際、発現ベクターは構成的に外来遺伝子を発現し得るもの、誘導的に発現し得るものの何れの組合わせを用いてもよいが、自律複製に必要なDNAが異なる複数の発現ベクターのすべてを誘導的に外来遺伝子を発現し得るものにし、発現誘導物質で発現誘導することにより、2種類以上の外来タンパク質を同時に発現產生させることができる。

【0026】

さらに、本発明の発現ベクター中の大腸菌用複製起点について異なるものを選択することにより、大腸菌においても2種類のタンパク質を同時発現させることができる。

【0027】

【実施例】

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例にその技術的範囲が限定されるものではない。

〔参考例1〕

(1) Rhodococcus erythropolis由来の、Rhodococcus属細菌内で自律複製可能なプラスミドの分離とその一部DNA配列の決定

Rhodococcus erythropolisと大腸菌の複合ベクターを作成するために、まずRhodococcus属細菌内に存在する小型の内在性プラスミドを検索した。すると、Rhodococcus erythropolis JCM2895 株にその存在が確認された。このプラスミドにpRE2895と名前を付けた。以下にプラスミドの分離と、そのDNA配列決定について具体的に述べる。

【0028】

Rhodococcus erythropolis JCM2895株を5 mlのLB培地 (1% Difco Bacto Tryptone、0.5% Difco Yeast Extract、1.0% 塩化ナトリウム) にて、30 °Cで30時間培養した菌体からQIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN社製) を用いてpRE2895を精製した。この際、Buffer P1 250 μ lに懸濁後、Buffer P2 250 μ lを加える前に、5 μ lのリゾチーム (100 mg/ml) を加え37 °Cで30分インキュベートした点を除いては、使用説明書通りに作業した。

【0029】

上記DNAサンプルを制限酵素EcoRIで処理し、1.0%アガロースゲル電気泳動 (100 V、30分) に供したところ、約5.4 kbのDNA断片1本の存在が確認された。

【0030】

この約5.4 kbのDNA断片をゲルから切り出し、QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN社製) を用いて、使用説明書通りに精製した。得られたEcoRI断片を常法 (Sambrook et al., Molecular Cloning: a laboratory manual, 2nd edition [1989], Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.) に従って、プラスミドpBluescript II SK (+) (STRATAGENE社製) のEcoRI部位にサブクローンし、このプラスミドにpHN79と名前を付けた。

【0031】

pHN79をReverse、M13-20両プライマー (共にSTRATAGENE社製) を用い、DNAシーケンサーABI PRISM(R) 3100 Genetic Analyzer (ABI社製) を用いて、使用説明書に準じて、pHN79の塩基配列を約400塩基ずつそれぞれ決定した。相同性検索の結果、pHN79にサブクローンされたRhodococcus erythropolis JCM2895株由来のDNA領域はその99.8%の配列がGenBankに受入番号AF312210として登録されている5403塩基対の環状DNA、pN30と一致した。

【0032】

分離したpRE2895は全塩基配列を決定しなかったが、pN30との相同性は極めて高く、また制限酵素切断地図もpN30の配列から予想されるものと一致したことから、これらの相同性はプラスミド全体にわたっていると予想された。また、pN30はMycobacterium fortuitum 002株から分離された内在性プラスミドpAL5000 (R

auzer et al., Gene 71 315-321 [1988]、Stolt and Stoker, Microbiology 142 2795-2802 [1996])、Rhodococcus erythropolis NI86/21株から分離されたpFA J2600 (De Mot et al., Microbiology 143 3137-3147 [1997])と相同性が高く、類似の機構で自律複製していると考えられた。pAL5000は推定RepA遺伝子、推定RepB遺伝子、推定複製開始点を含む領域のみで各細菌内で自律複製するために十分であるため、本発明者らが分離したpRE2895も同様の領域のみを発現ベクター中に組み込めば、Rhodococcus属細菌内で自律複製するために十分と考えられた。

【0033】

(2) ベクタープラスミドpHN136の構築

前記(1)で分離したpRE2895の一部と大腸菌内で自律複製可能なプラスミドの一部を用いて両菌の複合ベクターを作成するため以下の作業を行った(図1)。

【0034】

プラスミドpBluescript II SK (-) (STRATAGENE社製)をテンプレートとして、配列表中の配列番号1、2に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドプライマー(以下プライマーと略記)を用いて、ポリメラーゼチェーンリアクション法(以下、PCRと略記: Saiki et al., Science, 239 487-491 [1988])によるDNAの増幅を行った。なお、用いたPCR用の酵素はPfu turbo (STRATAGENE社製)である。その結果、アンピシリン耐性遺伝子(図中においてはAmp^rと表記)と大腸菌内で自律複製させるために必要なColEI配列領域を含む2.0kbの増幅されたDNAを得た。このDNA断片を制限酵素SacIとBsrGIで二重消化し、1.0%アガロースゲル電気泳動(100 V、30分)に供し、該DNA断片を切り出し、QIAquick Gel Extraction Kitを用いて、使用説明書に準じて精製した。

【0035】

一方、pN30(前記(1))の配列をもとにRhodococcus属細菌内で自律複製するために必要と思われる領域を増幅するプライマーを設計した。なお、同プライマーの配列は配列表中の配列番号3、4で示される。プラスミドpHN79をテンプレートとして、両プライマーを用いてPCRによる増幅を行ったところ1.9 kbの増

幅されたDNAを得た。このDNA断片を制限酵素BsrGIとSacIで二重消化し、1.0%アガロースゲル電気泳動（100 V、30分）に供し、該DNA断片を切り出し、上述の方法と同様に精製した。

【0036】

上記2つの精製されたDNA断片をDNA Ligation Kit Ver.2（宝酒造社製）を用いて、使用説明書通りにライゲーションし、得られたプラスミドにpHN129と名前を付けた。

【0037】

次にpHN129に存在する制限酵素認識部位BamHI、SalIを除去するため以下の作業をおこなった。まず、pHN129をテンプレートとして、配列表中の配列番号5、6に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。このPCR断片をBglIIとPstIで二重消化して得られた0.5 kbのDNA断片をpHN129のBamHI、PstI部位にサブクローンした。結果、BglIIとBamHIで連結された部分においては推定RepA遺伝子のオープンリーディングフレーム（以下ORFと略記）内であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、BamHI認識部位が除去された。またSalI認識部位はBamHI認識部位のごく近傍に存在したが、配列番号5に記載のプライマー中において、SalI認識部位が除かれ、かつ、コードされるアミノ酸が置換されないよう設計されていることから、BamHI認識部位と同時にSalI認識部位も除去されている。このプラスミドにpHN135と名前を付けた。

【0038】

次にpHN135に存在する制限酵素認識部位BglIIを除去するため以下の作業をおこなった。まず、プラスミドpHN135をテンプレートとして、配列表中の配列番号5、6に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。このPCR断片をPstIとBamHIで二重消化して得られた0.5 kbのDNA断片をpHN135のPstI、BglII部位にサブクローンした。結果、BamHIとBglIIで連結された部分においては推定RepB遺伝子のORF部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、BglII認識部位が除去された。この結果得られたプラスミドにpHN136と名前をつけた。

【0039】

(3) ベクタープラスミドpHN143の構築

タンパク質の発現誘導には抗生物質チオストレプトンを用いるが、Rhodococcus erythropolisは同物質に対して感受性であるために、耐性を付与させなければならない。そこでStreptomyces azureusが持つチオストレプトン耐性遺伝子、tsr遺伝子 (Bibb et al., Mol. Gen. Genet. 199 26-36 [1985]: 図中においては、Thio^rと表記する) を複合ベクター中に組み込むこととした。なお、この遺伝子がRhodococcus erythropolis内で機能し、チオストレプトン耐性を付与することはすでに報告されている (Shao and Behki, Lett. Appl. Microbiol. 21 261-266 [1995])。以下に、同遺伝子の分離について具体的に述べる (図 2)。

【0040】

まず、PCRのテンプレートに使用するStreptomyces azureus JCM4217株のゲノムDNAを以下のように調製した。5mlのSB培地 (1% Difco Bacto Tryptone、0.5% Difco Yeast Extract、0.5% 塩化ナトリウム、0.1% Glucose、5 mM塩化マグネシウム、0.5% グリシン) にて30 °Cで培養した同菌株を500 μ lのSETバッファー (75 mM 塩化ナトリウム、25 mM EDTA [pH8.0]、20 mM Tris-HCl[pH7.5]) に懸濁した。そこに、5 μ lのリゾチーム溶液 (100 mg/ml) を加え、37 °Cで30分インキュベートした。そして、14 μ lのプロテアーゼK溶液 (20 mg/ml) と60 μ lの硫酸ドデシルナトリウム溶液 (10%) を加え、よく混合した後55 °Cで2時間インキュベートした。その後、200 μ lの塩化ナトリウム溶液 (5 M) と500 μ lのクロロホルムを加え、20分間室温で回転撹拌した。遠心分離し、700 μ lの上清をとった。これをイソプロパノール沈殿後、乾燥させ、50 μ lのTE溶液 (10 mM Tris-HCl[pH8.0]、1 mM EDTA [pH8.0]) に溶解した。

【0041】

上記のように精製したStreptomyces azureus JCM4217株のゲノムDNAをテンプレートとして、配列表中の配列番号7、8に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、チオストレプトン耐性遺伝子を含む1.1 kbの増幅されたDNAを得た。なおこのDNA断片はプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼ (Gibco BRL社製) を用いたため、その末端は平滑末端である。このDNA断片を精製し、常法 (Sambrook et al., Molecular Cloning: a laboratory manual, 2nd edition [1989], Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.)

に従い5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した後、プラスミドpGEM-3Zf(+) (Promega社製) のHincII部位にサブクローンした(サブクローンされた向きはDNAの5'方向からHindIII認識部位-tsr遺伝子ORF-EcoRI認識部位である)。このプラスミドにpHN137と名前を付けた。

【0042】

次にpHN137に存在する制限酵素認識部位SalIを除去するため以下の作業をおこなった。まず、プラスミドpHN137をテンプレートとして、配列表中の配列番号9、10に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのPCRにはプラチナPfx DNAポリメラーゼを用いた。このPCR断片の片方の末端をHindIIIで消化して得られた0.6 kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、プラスミドpHN137をテンプレートとして、配列表中の配列番号11、12に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのPCRにはプラチナPfx DNAポリメラーゼを用いた。このPCR断片の片方の末端をEcoRIで消化して得られた0.5 kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら2つのPCR断片を同時にプラスミドpGEM-3Zf(+)のHindIII、EcoRI部位にサブクローンした結果、平滑末端同士で連結された部分においてはtsr遺伝子のORF部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、SalI認識部位が除去された。このプラスミドにpHN143と名前を付けた。

【0043】

(4) ベクタープラスミドpHN62の構築

チオストレプトンによって誘導型発現をさせるためにはRhodococcus属細菌内にTipAタンパク質を存在させなければならない。そのために、Rhodococcus erythropolisから構成的なプロモーターを分離し、その下流にTipAタンパク質をコードする構造遺伝子を連結した(図3)。構成的に機能するプロモーターとしてはRhodococcus erythropolisのアルデヒドデヒドロゲナーゼ様タンパク質をコードするThcA遺伝子(Nagy et al., J. Bacteriol. 177 676-687 [1995])のプロモーター配列を用いた。

【0044】

テンプレートに使用するStreptomyces coelicolor A3(2)株のゲノムDNAはStreptomyces azureusからゲノムDNAを調製したときと同様に作業し、精製した。また、Rhodococcus erythropolis JCM3201株のゲノムDNAは5 mlのLB培地で培養した点を除いてはStreptomyces azureusからゲノムDNAを調製したときと同様に作業し、精製した。

【0045】

上述のように精製したStreptomyces coelicolor A3(2)株のゲノムDNAをテンプレートとして、配列表中の配列番号13、14に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのPCRにはプラチナPfx DNAポリメラーゼを用いた。その結果、TipA遺伝子のORF並びにその下流の転写終結配列を含むDNA（図中においてはTipAと表記）を得た。

【0046】

このPCR断片の片方の末端をBglIIで消化して得られた0.9 kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、上述のように精製したRhodococcus erythropolis JCM3201株のゲノムDNAをテンプレートとして、配列表中の配列番号15、16に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、アルデヒドデヒドロゲナーゼ様タンパク質をコードするThcA遺伝子 (Nagy et al., J. Bacteriol. 177 676-687 [1995]) のプロモーター配列（図中においてはALDHpと表記）を含むDNAを得た。なおこのPCRにはプラチナPfx DNAポリメラーゼを用いた。このPCR断片の片方の末端をXbaIで消化して得られた0.2kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら2つのPCR断片を同時にプラスミドpGEM-3Zf(+)のXbaI、BamHI部位にサブクローンした結果、ThcA遺伝子のプロモーター配列のすぐ下流にTipA遺伝子のORF並びに転写終結配列を含むプラスミドが作成され、pHN33と名前を付けた。

【0047】

次にpHN33に存在する制限酵素NcoI認識部位2カ所（以下、NcoI(1)、NcoI(2)と表記する）を除去するため以下の作業をおこなった。

【0048】

まず、プラスミドpHN33をテンプレートとして、配列表中の配列番号9、17に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのPCRにはプラチナPfx DNAポリメラーゼを用いた。このPCR断片の片方の末端をXbaIで消化して得られた0.5 kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、プラスミドpHN33をテンプレートとして、配列表中の配列番号18、12に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのPCRにはプラチナPfx DNAポリメラーゼを用いた。このPCR断片の片方の末端をKpnIで消化して得られた0.6 kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら2つのPCR断片を同時にプラスミドpGEM-3Zf(+)のXbaI、KpnI部位にサブクローンした結果、平滑末端同士で連結された部分においてはTipA遺伝子のORF部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、NcoI(1)認識部位が除去された。このプラスミドにpHN50と名前を付けた。

【0049】

次にpHN33に存在する制限酵素認識部位NcoI(2)を除去するため以下の作業をおこなった。まず、プラスミドpHN33をテンプレートとして、配列表中の配列番号9、19に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのPCRにはプラチナPfx DNAポリメラーゼを用いた。このPCR断片の片方の末端をXbaIで消化して得られた0.8 kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、プラスミドpHN33をテンプレートとして、配列表中の配列番号20、12に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのPCRにはプラチナPfx DNAポリメラーゼを用いた。このPCR断片の片方の末端をKpnIで消化して得られた0.3 kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら2つのPCR断片を同時にプラスミドpGEM-3Zf(+)のXbaI、KpnI部位にサブクローンした結果、平滑末端同士で連結された部分においてはTipA遺伝子のORF部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、NcoI(2)認識部位が除去された。このプラスミドにpHN51と名前を付けた。

【0050】

最後に以下の作業を行った。pHN50をXbaIとSacIで二重消化して得られた0.7kbのDNA断片とpHN51をSacIとKpnIで二重消化した0.4kbの断片を同時にプラスミドpGEM-3Zf(+)のXbaI、KpnI部位にサブクローンした。結果、NcoI(1)とNcoI(2)両方の制限酵素部位を欠いたTipA遺伝子を持つプラスミドを取得し、これにpHN62と名前をつけた。

【0051】

(5) ベクタープラスミドpHN153の構築

目的のタンパク質を誘導的に発現せしめることができるかどうか確認するために、TipA遺伝子のプロモーターの下流にレポーター遺伝子としてThermoplasma acidophilum由来のプロリンイミノペプチダーゼ (Tamura et al., FEBS Lett. 398 101-105 [1996]: 以下PIPと略記する) をコードする遺伝子のORF (図中においてはPIP ORFと表記) を連結し、さらにその下流に転写のリードスルーを抑制するために転写終結配列を連結した。以下に具体的に述べる (図4)。

【0052】

前記(4)にて精製したStreptomyces coelicolor A3(2)株のゲノムDNAをテンプレートとして、配列表中の配列番号21、22に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、TipA遺伝子のプロモーター配列 (図中においてはTipApと表記) を含む0.2 kbの増幅されたDNAを得た。なおこのPCRにはプラチナPfx DNAポリメラーゼを用いた。この断片を精製し、常法により5'末端をT4ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した後、プラスミドpBluescript IISK (+)のSmaI部位にサブクローンした (サブクローンされた向きはDNAの5'方向からKpnI認識部位-TipA遺伝子プロモーター配列-SacI認識部位である)。このプラスミドにpHN150uと名前を付けた。

【0053】

次に、プラスミドpRSET-PIP (Tamura et al., FEBS Lett. 398 101-105 [1996]: 以下PIPと略記する) をテンプレートとして、配列表中の配列番号23、24に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なお、配列表中の配列番号24のプライマーはPIP遺伝子の終止コドンを除いて、かつタンパク質の

精製を容易にするために6×HisタグがPIPタンパク質のC末端に付くように設計されている。6×Hisタグは、6つの連続したヒスチジン残基から成る連続配列で、これを融合したタンパク質は、ニッケルイオン等に高い親和性を示すようになる。従って、ニッケルイオン等を用いた金属キレートクロマトグラフィーで精製が容易になる (Crowe et al., Methods Mol. Biol. 31 371-387 [1994])。このPI P遺伝子を含む0.9 kbのDNA断片を制限酵素NcoIとSpeIで二重消化し、pHN150uのNcoI、SpeI部位にサブクローンした結果、TipA遺伝子のプロモーター配列のすぐ下流にPIP遺伝子のORFを含むプラスミドが作成され、pHN151uと名前を付けた。

【0054】

次に、前記(4)にて精製したRhodococcus erythropolis JCM3201株のゲノムDNAをテンプレートとして、配列表中の配列番号25, 26に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、ThcA遺伝子の転写終結配列 (Nagy et al., J. Bacteriol. 177 676-687 [1995]: 図中においてはALDHtと表記)を含むDNAを得た。この0.2kbのDNA断片を制限酵素SpeIとXbaIで二重消化し、pHN151uのSpeI、XbaI部位にサブクローンした。その結果、TipA遺伝子のプロモーター配列のすぐ下流にPIP遺伝子のORFを含み、またそのすぐ下流にThcA遺伝子の転写終結配列を含むプラスミドが作成され、pHN153と名前を付けた。

【0055】

(6) ベクタープラスミドpHN169の構築

Rhodococcus erythropolisをプラスミドで形質転換するためには適当な形質転換マーカーが必要になる。そこでRhodococcus属細菌内で機能する強力なプロモーターの下流に薬剤耐性遺伝子を連結し、使用することとした。プロモーターとしては、Streptomyces属細菌由来の Elongation factor TuをコードするTufI遺伝子プロモーターを用いることとしたが、これは同プロモーターが強力に下流の遺伝子を転写せしめるとの報告があるからである (Wezel et al., Biochim. Biophys. Acta 1219 543-547 [1994])。また、薬剤耐性遺伝子は入手が容易なテトラサイクリン耐性遺伝子を用いた。以下に具体的に述べる (図5)。

【0056】

前記(4)にて精製したStreptomyces coelicolor A3(2)株のゲノムDNAをテン

プレートとして、配列表中の配列番号 2 7、2 8 に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、Tuf1遺伝子のプロモーター配列（図中においてはTuf1pと表記）を含む0.2 kbの増幅されたDNAを得た。なおこのPCRにはブラチナPfx DNAポリメラーゼを用いた。この断片を精製し、常法により5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した後、プラスミドpBluescript II SK (+) のHincII部位にサブクローンした（サブクローンされた向きはDNAの5'方向からKpnI認識部位-Tuf1遺伝子プロモーター配列-EcoRI認識部位である）。このプラスミドにpHN158と名前を付けた。

【 0 0 5 7 】

次に、プラスミドpACYC184 (Rose, Nucleic Acids Res. 16 355 [1988]) をテンプレートとして、配列表中の配列番号 2 9、3 0 に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、テトラサイクリン耐性遺伝子（図中においてはTet^rと表記）を含むDNAを得た。この1.3kbのDNA断片を制限酵素XhoIとSpeIで二重消化し、pHN158のSalI、SpeI部位にサブクローンした結果、Tuf1遺伝子のプロモーター配列のすぐ下流にテトラサイクリン耐性遺伝子を含むプラスミドが作成され、pHN159と名前を付けた。

【 0 0 5 8 】

次にpHN159に存在する制限酵素認識部位BamHIを除去するため以下の作業をおこなった。まず、プラスミドpHN159をテンプレートとして、配列表 3 1、3 2 に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのDNA断片はPfu turbo DNA ポリメラーゼを用いたため、その末端は平滑末端である。このPCR断片の片方の末端をXhoIで消化して得られた0.5 kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、プラスミドpHN159をテンプレートとして、配列表中の配列番号 3 3、3 4 に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのPCRにはPfu turbo DNAポリメラーゼを用いた。このPCR断片の片方の末端をNotIで消化して得られた1.1kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら 2 つのPCR断片を同時にプラスミドpBluescript II SK (+) のXhoI、NotI部位にサブクローンした結果、平

滑末端同士で連結された部分においてはテトラサイクリン耐性遺伝子のORF部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、BamHI部位が除去された。このプラスミドにpHN165と名前を付けた。

【0059】

次にpHN159に存在する制限酵素認識部位SalIを除去するため以下の作業をおこなった。まず、プラスミドpHN159をテンプレートとして、配列表中の配列番号31、35に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのPCRにはPfu turbo DNAポリメラーゼを用いた。このPCR断片の片方の末端をXhoIで消化して得られた0.8 kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、プラスミドpHN159をテンプレートとして、配列表中の配列番号36、34に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。なおこのPCRにはPfu turbo DNA ポリメラーゼを用いた。このPCR断片の片方の末端をNotIで消化して得られた0.8 kbのDNA断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の5'末端をT4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら2つのPCR断片を同時にプラスミドpBluescript II SK (+) のXhoI、NotI部位にサブクローンした結果、平滑末端同士で連結された部分においてはテトラサイクリン耐性遺伝子のORF部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、SalI認識部位が除去された。このプラスミドにpHN166と名前を付けた。

【0060】

最後に以下の作業を行った。pHN166をSphIとSpeIで二重消化して得られた0.9 kbのDNA断片をpHN165のSphI、SpeI部位にサブクローンした。結果、BamHIとSalI両方の制限酵素認識部位を欠くテトラサイクリン耐性遺伝子クローンを取得し、このプラスミドにpHN169と名前をつけた。

【0061】

(7) ベクタープラスミドpHN170、pHN171の構築

前記(2)から(6)までに分離してきた遺伝子群を連結し、Rhodococcus属細菌内で誘導可能な発現ベクターを構築するために以下の作業を行った(図6)

。

【0062】

pHN143をSacIで消化して得られた1.1 kbのDNA断片をpHN136のSacI部位にサブクローンした（サブクローンされた向きはDNAの5'方向から推定RepB遺伝子ORF-tsr遺伝子ORF-アンピシリン耐性遺伝子ORFである）。その結果できたプラスミドにpHN144と名前をつけた。

【0063】

次に、pHN62をXbaIとKpnIで二重消化して得られた1.1 kbのDNA断片をpHN144のXbaI、KpnI部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドにpHN152と名前をつけた。

【0064】

次に、pHN153をBsrGIとXbaIで二重消化して得られた1.2 kbのDNA断片をpHN152のBsrGI、SpeI部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドにpHN154と名前をつけた。

【0065】

次に、pHN169をXbaIとSpeIで二重消化して得られた1.6 kbのDNA断片をpHN154のXbaI部位にサブクローンした（サブクローンされた向きはDNAの5'方向からtsr遺伝子ORF-テトラサイクリン耐性遺伝子ORF-ThcA遺伝子プロモーター配列である）。その結果TipA遺伝子プロモーターの制御下に置かれたPIP遺伝子を含むプラスミドが作成され、できたプラスミドにpHN170と名前をつけた。

【0066】

また組み換えタンパク質の高発現化のため、TipA遺伝子プロモーター下流のリボソーム結合部位を翻訳効率の良いとされるラムダファージgene10由来の配列（Gold and Stormo, Methods Enzymol. 185 89-93 [1990]）に変化させた（図6）。以下に具体的に述べる。

【0067】

プラスミドpHN170をテンプレートとして、配列表中の配列番号21, 37に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、TipA遺伝子プロモーターとラムダファージgene10由来リボソーム結合部位からなるハイブリッドプロモーター（以下TipA-LG10プロモーターと表記する：図中に置いてはTipA-LG

10pと表記)を得た。この0.2 kbのDNA断片を制限酵素BsrGIとNcoIで二重消化し、pHN170のBsrGI、NcoI部位にサブクローンした。その結果TipA-LG10プロモーターの制御下に置かれたPIP遺伝子を含むプラスミドが作成され、できたプラスミドにpHN171と名前をつけた。図12にTipAプロモーター配列を、図13にTipAプロモーターのTipA-LG10プロモーターへの改変のためのリボソーム結合部位(RBS)配列の改良を示す。

【0068】

(8) ベクタープラスミドpTip-NH1、pTip-CH1、pTip-LNH1、pTip-LCH1の構築
前記(7)で述べたプラスミドからレポーターであるPIP遺伝子を除き、マルチクロニング部位を導入するため以下の作業を行った(図7)。

【0069】

配列表中の配列番号38、39に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドはマルチクロニング部位になる配列を含み、お互いに相補的な配列を持つ。これら2つを等モル量ずつ混合し、70℃で10分処理し、20分かけて室温に冷却し、2本鎖化させた。その結果、その末端はNcoIとSpeIで二重消化されたベクターと連結可能な状態になり、この2本鎖化した合成DNA(図中においてはMCS Linker NNcoと表記)をpHN170のNcoI、SpeI部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドにpTip-NH1と名前をつけた。また、配列表中の配列番号40、41に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチド(マルチクロニング部位になる配列を含み、お互いに相補的な配列を持つ)を同様に2本鎖化させた合成DNA(図中においてはMCS Linker CNcoと表記)をpHN170のNcoI、SpeI部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドにpTip-CH1と名前をつけた。

【0070】

前記(7)で述べたTipA遺伝子プロモーター配列とラムダファージgene10由来リボソーム結合部位からなるハイブリッドDNAを制限酵素BsrGIとNcoIで二重消化し、pTip-NH1とpTip-CH1のBsrGI、NcoI部位にそれぞれサブクローンした。結果得られたプラスミドにpTip-LNH1、pTip-LCH1とそれぞれ名前を付けた。

【0071】

(9) ベクタープラスミドpTip-NH2、pTip-CH2、pTip-LNH2、pTip-LCH2の構築

前記(8)で述べたプラスミドpTip-NH1、pTip-CH1、pTip-LNH1、pTip-LCH1において、マルチクローニング部位の最も上流のNcoI部位をNdeIに変更するために以下の作業を行った(図8)。

【0072】

プラスミドpHN170をテンプレートとして、配列表中の配列番号21、42に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、TipA遺伝子プロモーターを含むDNAを得た。この0.2 kbのDNA断片を制限酵素BsrGIとNdeIで二重消化し、pHN170のBsrGI、NdeI部位にサブクローンした。結果得られたプラスミドにpHN183と名前を付けた。

【0073】

配列表中の配列番号43、44に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドはマルチクローニング部位になる配列を含み、お互いに相補的な配列を持つ。これら2つを等モル量ずつ混合し、70℃で10分処理し、20分かけて室温に冷却し、2本鎖化させた。その結果、その末端はNdeIとSpeIで二重消化されたベクターと連結可能な状態になり、この2本鎖化した合成DNA(図中においてはMCS Linker NNdeと表記)をpHN183のNdeI、SpeI部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドにpTip-NH2と名前をつけた。また、配列表中の配列番号45、46に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチド(マルチクローニング部位になる配列を含み、お互いに相補的な配列を持つ)を同様に2本鎖化させた合成DNA(図中においてはMCS Linker CNdeと表記)をpHN183のNdeI、SpeI部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドにpTip-CH2と名前をつけた。

【0074】

プラスミドpTip-LNH1をテンプレートとして、配列表中の配列番号21、47に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、TipA遺伝子プロモーターとラムダファージgene10由来リボソーム結合部位からなるハイブリッドDNAを得た。この0.2kbのDNA断片を制限酵素BsrGIとNdeIで二重消化し、pTip-NH2とpTip-CH2のBsrGI、NdeI部位にそれぞれサブクローンした。結果得られたプラスミドにpTip-LNH2、pTip-LCH2とそれぞれ名前を付けた。

【0075】

前記(8)、(9)で作成したプラスミドのマップと、マルチクロニング部位周辺の配列をまとめて図9に示す。該図中、実線の矢印はTipA遺伝子プロモーター中に存在するInverted repeat配列を示す。斜線の矢印はThcA遺伝子転写終結配列に存在するInverted repeat配列を示す。また、原核生物のプロモーター領域に一般的に存在し、遺伝子の転写に重要な-10領域、-35領域、RBSは四角で囲んである。またRBSの中でも最も重要なSD配列(Shine and Dalgarno, Eur. J. Biochem. 57 221-230 [1975])は下線を引いてある。

【0076】

(10) ベクタープラスミドpTip-CH1.1、pTip-CH2.1、pTip-LCH1.1、pTip-LCH2.1の構築

前記(8)及び(9)で述べたプラスミドpTip-CH1、pTip-CH2、pTip-LCH1、pTip-LCH2において、マルチクロニング部位のXhoI部位以降の読み枠を市販のpETベクター(Novagen社)の読み枠と一致させるために以下の作業を行った(図10)。

【0077】

プラスミドpTip-CH1をテンプレートとして、配列表中の配列番号21、48に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、TipA遺伝子プロモーターとマルチクロニング部位を含むDNAを得た。この0.3 kbのDNA断片を制限酵素BsrGIとSpeIで二重消化し、pTip-CH1のBsrGI、SpeI部位にサブクローンした。結果得られたプラスミドにpTip-CH1.1と名前を付けた。

【0078】

プラスミドpTip-CH2をテンプレートとして、配列表中の配列番号21、48に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、TipA遺伝子プロモーターとマルチクロニング部位を含むDNAを得た。この0.3 kbのDNA断片を制限酵素BsrGIとSpeIで二重消化し、pTip-CH1のBsrGI、SpeI部位にサブクローンした。結果得られたプラスミドにpTip-CH2.1と名前を付けた。

【0079】

プラスミドpTip-LCH1をテンプレートとして、配列表中の配列番号21、48に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、TipA-LG10プ

ロモーターとマルチクローニング部位を含むDNAを得た。この0.3kbのDNA断片を制限酵素BsrGIとSpeIで二重消化し、pTip-CH1のBsrGI、SpeI部位にサブクローンした。結果得られたプラスミドにpTip-LCH1.1と名前を付けた。

【0080】

プラスミドpTip-LCH2をテンプレートとして、配列表中の配列番号21、48に記載のプライマーを用いて、PCRによる増幅を行った。その結果、TipA-LG10プロモーターとマルチクローニング部位を含むDNAを得た。この0.3 kbのDNA断片を制限酵素BsrGIとSpeIで二重消化し、pTip-CH1のBsrGI、SpeI部位にサブクローンした。結果得られたプラスミドにpTip-LCH2.1と名前を付けた。

【0081】

(11) ベクタープラスミドpHN172、pHN173の構築

発現の誘導が厳密に調節されているかを調べるために以下のようなコントロール実験用プラスミドを作成した(図11)。

【0082】

pHN169をXbaIとSpeIで二重消化して得られた1.6 kbのDNA断片をpHN144のXbaI部位にサブクローンした(サブクローンされた向きはDNAの5'方向からtsr遺伝子ORF-テトラサイクリン耐性遺伝子ORF-アンピシリン耐性遺伝子ORFである)。その結果できたプラスミドにpHN172と名前をつけた。

【0083】

次に、pHN153をBsrGIとXbaIで二重消化して得られた1.2 kbのDNA断片をpHN144のBsrGI、SpeI部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドにpHN164と名前をつけた。次いで、pHN169をXbaIとSpeIで二重消化して得られた1.6kbのDNA断片をpHN164のXbaI部位にサブクローンした(サブクローンされた向きはDNAの5'方向からtsr遺伝子ORF-テトラサイクリン耐性遺伝子ORF-アンピシリン耐性遺伝子ORFである)。その結果できたプラスミドにpHN173と名前をつけた。

【0084】

pHN170は、TipA遺伝子プロモーター、その下流にPIP ORF、さらにその下流にThcA遺伝子転写終結配列、の3因子が連結された遺伝子カセット(以下Expression cassetteと表記)と、ThcA遺伝子プロモーター、その下流にTipA遺伝子、の2

因子が連結された遺伝子カセット（以下Inducer cassetteと表記）両方をもつ。
pHN173はExpression cassetteのみをもち、pHN172は両cassetteを持たない。

【0085】

(12) Rhodococcus属細菌の形質転換

Rhodococcus erythropolis JCM3201株をLB培地100 mlにて対数増殖期に至るまで30℃で振とう培養する。培養液を30分間氷冷し、遠心分離し、菌体を回収する。これに100 mlの氷冷滅菌水を加え、よく攪拌し、再び遠心分離し、菌体を回収する。これに100 mlの氷冷10%グリセリン溶液を加え、よく攪拌し、遠心分離し、菌体を回収する。この氷冷10%グリセリン溶液での洗浄をもう一度繰り返す。菌体を5 mlの氷冷10%グリセリン溶液に懸濁する。400 μ lずつ分注し、液体窒素で瞬間冷凍し、使用するまで-80℃にて保存した。-80℃から菌体を取り出し、氷上にて融解し、プラスミドpHN170、またはpHN172、またはpHN173を3 μ l（それぞれ約300 ng）加えた。この菌体とDNAの混合液をエレクトロポレーションキュベット（Bio-Rad社:0.2 cm ギャップキュベット）に移し、同社の遺伝子導入装置ジーンパルサーIIを用いて、電場強度12.5 kV/cmで、パルスコントローラーの設定はキャパシタンス25 μ F、外部抵抗400 Ω にてそれぞれ電気パルスを与えた。電気パルス処理した菌体とDNAの混合液を1 mlのLB培地に混合し、30℃にて4時間培養した後集菌し、20 μ g/mlテトラサイクリン入りLB寒天培地（寒天は濃度1:8%）に塗布し、30℃にて3日培養し、それぞれの形質転換体を得た。

【0086】

〔実施例1〕

実験方法

まず、以下の実施例2から実施例12に書かれた実験に用いた手法を列挙する。

プラスミドは全て、常法（Sambrook et al., Molecular Cloning: a laboratory manual, 2nd edition [1989], Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.）に従って構築した。ポリメラーゼチェーンリアクション法（以下、PCRと略記；Saiki et al., Science 239 487-491 [1988]）には全てPfu turbo（STRATAGENE社製）を用いた。プラスミドから切り出したDNA断片は1

.0%アガロースゲル電気泳動に供し、目的のDNA断片を切り出し、QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen社製) を用いて、使用説明書に準じて精製した。Streptomyces coelicolor A3(2)株、R. erythropolis DSM313株のゲノムDNAの分離法、並びにRhodococcus属細菌からのプラスミドDNAの精製方法は参考例1に記載したものと同一である。大腸菌ER2508株 (New England Biolabs社) のゲノムDNAはQIAGEN社製QIAGEN RNA/DNA Mini Kitを用い、使用説明書に準じて精製した。DNA断片の5'末端をリン酸化する必要がある場合は東洋紡社製T4 polynucleotide kinaseを用いた。塩基配列決定にはDNAシーケンサーABI PRISM(R) 3100 Genetic Analyzer (ABI社製) を用いた。リガーゼ反応にはNew England Biolabs社製のT4 DNA ligaseを用いた。

【0087】

用いた主なプラスミド、菌株を表1, 2に示す。Rhodococcus属細菌、Streptomyces coelicolor A3(2)株、大腸菌の培養はLuria Broth (LB; 1% Bacto trypton, 0.5% Bacto yeast extract, 1% 塩化ナトリウム) で行った。Rhodococcus属細菌のコンピテントセル作成法、並びに形質転換法は参考例1に記されているが、予めプラスミドを保持しているRhodococcus属細菌のコンピテントセルを作成する際には、適当な抗生物質を含んだLB培地で培養した菌体から行った。形質転換体を選択する際には、テトラサイクリン (液体培地では、 $8\mu\text{g}/\text{ml}$ 、固体培地では $20\mu\text{g}/\text{ml}$)、クロラムフェニコール ($34\mu\text{g}/\text{ml}$)、アンピシリン ($50\mu\text{g}/\text{ml}$) を用いた。

【0088】

誘導型ベクターを用いてProline iminopeptidase (以下PIP) または、蛍光緑色タンパク質 (以下GFP) をRhodococcus属細菌にて発現させる際には、Rhodococcus属細菌の形質転換体を適当な抗生物質を含むLB培地で 30°C にて培養し、 600nm の波長で測定したオプティカルデンシティー (O.D.600) が0.6になった時点で、終濃度 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ になるようにチオストレプトン (溶媒はジメチルスルホオキシド) を加え、さらに16時間培養を続けた。構成型ベクターを用いて発現させる際には、Rhodococcus属細菌の形質転換体を適当な抗生物質を含むLB培地で 30°C にてO.D.600が2.0になるまで培養した。

【0089】

PIPのペプチダーゼ活性を測定する方法を以下に詳述する。上記のようにPIPを発現させたRhodococcus属細菌の培養液を、8 $\mu\text{g} / \text{ml}$ の適当な抗生物質を含むLB培地で200 μl にメスアップし、60 $^{\circ}\text{C}$ にて1分加温する。そこにPIPの基質として2 μl のH-Pro- β NA (100 mM; 溶媒はジメチルスルホキシド) を加え60 $^{\circ}\text{C}$ にて20分インキュベートする (PIPは60 $^{\circ}\text{C}$ が至適温度)。PIPによってH-Pro- β NAから加水分解されて遊離した β NAを観察するために、発色剤として134 μl のFast Garnet GBC Salt 溶液 (和光純薬社製で濃度0.5 mg / ml : 1 M 酢酸ナトリウムバッファー (pH 4.2)、10% Triton X-100が溶媒) を加える。PIPが発現していなければ上記混合液は黄色を呈するが、発現していれば赤色を呈する。また、呈色した赤色を吸光分光光度計を用い、550 nmでの吸光度 (A550) を測定し、PIP活性を定量した。測定はFast Garnet GBC Saltを加えた後、滅菌水666 μl を加え希釈して行った。

【0090】

その際、550 nmでは細胞のオプティカルデンシティーも測定してしまうので、550 nmでの細胞のオプティカルデンシティー (O.D.550) は別測定し、測定時に使用したO.D.550に相当する値をA550の値から差し引いて補正した値をAc550とする。すなわち、 $\text{Ac550} = \text{A550} - \text{O.D.550} \times \text{PIPの活性測定に使用した培養液量 (ml)}$ で計算される。ユニット値は「20分間の測定で得られる、培養液1 mlあたり、O.D.600=1あたりのAc550の値」とし、「 $\text{Ac550} \div \text{PIPの活性測定に使った培養液量 (ml)} \div \text{O.D.600}$ 」で計算した。

【0091】

〔実施例2〕

R. erythropolisに存在する新規内在性プラスミドpRE8424の分離

本発明者はR. erythropolisに存在する新規内在性プラスミドを探索し、R. erythropolis JCM2893、R. erythropolis JCM2894、R. erythropolis DSM43200、R. erythropolis DSM8424の4株から小型の環状プラスミドを分離し、それぞれpRE2893、pRE2894、pRE43200、pRE8424と名前を付けた。

【0092】

これらのうち、pRE2893、pRE2894、pRE43200のDNA配列を一部決定したところ、本発明者が以前にR. erythropolis JCM2895株から分離していたpRE2585（参考例1を参照）とほぼ同一の配列を有していた。pRE2895はプラスミドの複製に関与するRepA、RepBタンパク質をコードする遺伝子をRepABオペロンとして有しているが、これらのタンパク質はMycobacterium fortuitumから分離されたpAL5000プラスミドがコードするRepA、RepBタンパク質と高度に類似しており、pRE2895とpAL5000が類似の様式で自律複製していることが示唆された（Stolt and Stoker, Microbiology 142 2795-2802 [1996], 参考例1）。pRE2895とpAL5000の複製様式は明らかでないが、両プラスミドのRepAタンパク質がColE2プラスミドのRepタンパク質に相同性があるため、ColE2プラスミド同様「 θ 型」の自律複製様式を有することが考えられた（Hiraga et al., J. Bacteriol. 176 7233-7243 [1994]）。

【0093】

一方、pRE8424はpRE2585と全く異なるDNA配列を有していた（配列表中の配列番号90、図1）。このプラスミドは6つのオープンリーディングフレーム（ORF；ORF1からORF6）を持ち、うちORF6がコードするタンパク質（図14）はローリングサークル様式で自律複製する一群のプラスミドが持つRep遺伝子がコードするタンパク質と相同性が高かった（Khan, Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61 442-455 [1997]）。中でも、Arcanobacterium pyrogenes由来pAP1（Billington et al., J. Bacteriol. 180 3233-3236 [1998]）、Streptomyces lividans由来pIJ101（Kendall et al., J. Bacteriol. 170 4634-4651 [1988]）、Streptomyces phaeochromogenes由来pJV1（Servin-Gonzalez et al., Microbiology 141 2499-2510 [1995]）、Brevibacterium lactofermentum由来pBL1（Fernandez-Gonzalez et al., J. Bacteriol. 176 3154-3161 [1994]）、Streptomyces nigrifaciens由来pSN22（Kataoka et al., Plasmid 32 55-69 [1994]）と相同性が高かった（図15）。これらのプラスミドは、いずれもローリングサークル型プラスミドの中でもpIJ101/pJV1ファミリーに属するもので（Khan, Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61 442-455 [1997]）、pRE8424もこのファミリーに属するローリングサークル型プラスミドである可能性が示唆された。以下、ORF6はRepと記載する。

【0094】

一般に、ローリングサークル型プラスミドが宿主細胞内で自律複製するためには、前出のRepの他に、2本鎖複製起点 (double-stranded origin; 以下DSO)、1本鎖複製起点 (single-stranded origin; 以下SSO) となるDNA配列が必要である。本発明者は様々なpRE8424の変異体を作成し、R. erythropolisを形質転換し、様々な解析を行い、DSO、SSO配列の所在を同定した (図14)。DSOは配列表中の配列番号90のうちヌクレオチド番号5514から5970内に存在すると考えられたが、他のローリングサークル型プラスミドのDSO配列との比較から、配列表中の配列番号90のヌクレオチド番号5705から5734の配列が最もDSOの機能に重要だと考えられた (図16)。また、同定したSSO配列を図17に示す。SSO配列は一般に、ステム - ループ構造など高度な二次構造を持ち、さらに、pIJ101/pJV1ファミリーのプラスミドの場合、ステム - ループ構造のループ部分にTAGCGTなどからなる共通配列が存在するケースが多い。pRE8424のSSOも高度な二次構造を持ち、ループ部分にTAGCGG配列を持つ (図17)。

【0095】

本発明者は、上記TAGCGGに変異を持つpRE8424の派生プラスミドがR. erythropolis細胞内に大量に一本鎖DNAとして蓄積していたことを見いだした。一本鎖DNAの蓄積はローリングサークル型プラスミドのホールマークであることから (Khan, Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61 442-455 [1997])、pRE8424はローリングサークル様式で自律複製していることが明らかとなった。

【0096】

pRE8424の派生プラスミドが宿主細胞であるR. erythropolis内で自律複製するためには、Rep、DSO、SSOを含む2.0 kbの領域、すなわち配列表中の配列番号90のうちヌクレオチド番号3845から5849までの領域、で十分であった (以下の実施例3参照)。

【0097】

図14はpRE8424のマッピングを示す。図14中には主な制限酵素認識部位が示されていて、6つのORFが矢印で示されている。DSOとSSOの位置が四角で示されている。

【0098】

図15はpRE8424、pAP1、pBL1、pJV1、pIJ101、pSN22のRepタンパク質の5カ所の保存された領域 (Motif IV、Motif I、Motif II、Motif III、C-terminal motif; Billington et al., J. Bacteriol. 180 3233-3236 [1998]参照) のアミノ酸配列を示す。数字は各領域間に存在するアミノ酸残基の数、即ちギャップのアミノ酸残基の数を示す。完全に保存されたアミノ酸残基は星(*)、高度に保存された領域は2つの点(:)、比較的保存された領域は1つの点(.)で示した。Repタンパク質の機能に重要とされるチロシン残基は四角で囲ってある。

【0099】

図16はpRE8424、pAP1、pBL1、pJV1、pIJ101、pSN22のDSOと考えられる配列のうち、特に保存されたDNA部分を示す。更にDSOの機能に特に重要なGGジヌクレオチドは下線を引いてある (Billington et al., J. Bacteriol. 180 3233-3236 [1998]参照)。

【0100】

図17はpRE8424のSSO、即ち配列表中の配列番号90のうちヌクレオチド番号5268から5538の配列と、その取りうる二次構造を示した。二次構造の予測はmfold program, version 3.0 (Michael Zuker, Washington University, St. Louis, Mo.; <http://www.bioinfo.rpi.edu/applications/mfold/old/dna/form1.cgi>) によって行った。上述のTAGCGG配列を黒丸で示した。

【0101】

〔実施例3〕

pHN372の構築

pRE8424の自律複製に必須な2.0 kbの領域には、不必要な制限酵素認識部位BamHIが存在していたので、これを除去する作業を以下のように行った。

【0102】

pRE8424をテンプレートとし、配列表中の配列番号57 (sHN389)、58 (sHN390) に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドプライマー (以下プライマーと略記) を用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた1.0 kbの断片はRepの5'末端側の一部を含む。この断片の5'末端をリン酸化し、pBluescript II SK

(+) (STRATAGENE社製) のHincII部位に導入し、できたプラスミドにpHN371と名前を付けた。pRE8424をテンプレートとし、配列表中の配列番号59 (sHN391)、60 (sHN321) に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた1.0 kbの断片はRepの3'末端側の一部を含む。この断片をBamHIで消化した後、5'末端をリン酸化し、pHN371のEcoRV / BglII部位に導入した。できたプラスミドにpHN372と名前を付けた。pHN372は、pRE8424の自律複製に必須な2.0 kbの領域を持ち、かつ、pRE8424には存在したBamHI部位は除去されている。また、BamHI部位の除去は、pRE8424の自律複製の機能には影響しなかった。

【0103】

〔実施例4〕

pHN346の構築

Rhodococcus属細菌の形質転換体選択マーカーとして、参考例に示すベクターの構築においてはテトラサイクリン耐性遺伝子のみ開発していたが、複数のプラスミドで形質転換するためには、別の抗生物質に対する耐性遺伝子を新規に開発する必要がある。本発明者は、R. erythropolis DSM 313株がクロラムフェニコールに対して耐性を有していることを見だし、耐性を付与している遺伝子を分離することとした。Rhodococcus属細菌からは、すでに2つのクロラムフェニコール耐性遺伝子が分離されており (cmrA遺伝子、ならびにcmr遺伝子)、これらの遺伝子は互いに高い相同性を有している (De Mot et al., Microbiology 143 3137-3147 [1997]、Desomer et al., Mol. Microbiol. 6 2377-2385 [1992])。

【0104】

R. erythropolis DSM 313株のクロラムフェニコール耐性遺伝子もこれらに相同であることが予想されたので、R. erythropolis DSM 313株ゲノムDNAをテンプレートとし、配列表中の配列番号61 (sHN335)、62 (sHN336) に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。なお、該プライマーはcmrA遺伝子とcmr遺伝子において最も相同性が高かった配列をもとにデザインした。その結果、0.7 kbの増幅されたバンドが確認された。このPCR産物のDNA配列を決定したところ、cmrA遺伝子に極めて高い相同性を有していた。決定された配列を元に、配列表中の配列番号63 (sHN349)、64 (sHN351) に記載のプライマーを設

計し、インバースPCR (Ochman et al., Genetics 120 621-623[1988]) にて R. erythropolis DSM 313株のクロラムフェニコール耐性遺伝子の全長を分離した。テンプレートとして用いたDNAは R. erythropolis DSM313株のゲノムDNA 0.1 μ g を SalI で切断し、リガーゼにより自己閉環化したものである。得られたPCR産物は2.3 kbで、この断片の全DNA配列を決定した。この断片中には1つのORFが存在し、この遺伝子に Ch1A と名前を付けた (図中ではCh1rと表記)。

【0105】

R. erythropolis DSM 313株ゲノムDNAをテンプレートとし、配列表中の配列番号65 (sHN361)、66 (sHN362) に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた0.5 kbの断片はクロラムフェニコール耐性遺伝子の5'末端部分を含む。この断片を SacI で消化し、その5'末端をリン酸化した。一方、R. erythropolis DSM 313株ゲノムDNAをテンプレートとし、配列表中の配列番号67 (sHN363)、68 (sHN364) に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた1.3 kbの断片はクロラムフェニコール耐性遺伝子の3'末端部分を含む。この断片を SpeI で消化し、その5'末端をリン酸化した。これら2つのDNA断片を同時にpBluescript II SK (+)の SacI / SpeI 部位に導入し、できたプラスミドにpHN346と名前を付けた。pHN346は全長のクロラムフェニコール耐性遺伝子を含むが、該ORF中にもともと存在していた EcoRI 部位が除かれている (ただし、コードするタンパク質のアミノ酸配列は変化しない)。

【0106】

〔実施例5〕

Proline iminopeptidase (PIP) をレポーター遺伝子として有する誘導型発現ベクターの構築; pHN171、pHN379、pHN348、pHN380の構築

pHN346 (実施例4) から1.8 kbのクロラムフェニコール耐性遺伝子を含む断片を XbaI と SpeI で切り出し、pHN154 (特願2002-235008) の XbaI 部位に導入した。この結果できたプラスミドにpHN347と名前を付けた。pHN171 (参考例を参照) から1.1 kbの断片を BsrGI と SpeI で切り出し、pHN347の BsrGI / SpeI 部位に導入した。出来たプラスミドにpHN348と名前を付けた。

【0107】

pHN171もpHN348もpTipベクター（参考例を参照）のMCSにレポーター遺伝子、PIPが導入された発現ベクターであるが、pHN171がテトラサイクリン耐性遺伝子、形質転換マーカーとして持つのに対して、pHN348がクロラムフェニコール耐性遺伝子を持っていることのみが異なる。また、いずれのプラスミドもTipA遺伝子プロモーターの下流に元来存在していたリボソーム結合部位配列（TipA-RBS）は翻訳効率の良い、バクテリオファージgene 10由来のリボソーム結合部位配列に変更されている（TipA-LG10プロモーター；参考例を参照）。PIPのCの末端側には、タンパク質の精製を容易にするために6×Hisタグが付くように設計されている。6×Hisタグは、6つの連続したヒスチジン残基から成る連続配列で、これを融合したタンパク質は、ニッケルイオン等に高い親和性を示すようになる。従って、ニッケルイオン等を用いた金属キレートクロマトグラフィーで精製が容易になる（Crowe et al., Methods Mol. Biol. 31 371-387 [1994]）。

【0108】

上述のpHN171とpHN348のDNA配列のうち、pRE2585に由来するプラスミドの自律複製に必須な1.9 kbの領域を、pRE8424に由来するプラスミドの自律複製に必須な2.0 kbの領域に変更するために以下の作業を行った。

【0109】

pHN171をテンプレートとし、配列表中の配列番号69（sHN368）、70（sHN373）に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた0.2 kbの断片はチオストレプトン耐性遺伝子（tsr遺伝子；図中ではThiorと表記）（Bibb et al., Mol. Gen. Genet. 199 26-36 [1985]）の5'末端部分を含む。この断片をBsrGIとClaIで消化し、pHN171とpHN348のBsrGI / ClaI部位にそれぞれ導入した。この結果出来たプラスミドにそれぞれpHN357とpHN358と名前を付けた。pHN372（実施例3）から2.0 kbのpRE8424に由来するプラスミドの自律複製に必須な領域を含む断片をBsrGIとHpaIで切り出し、pHN357とpHN358のBsrGI / HpaI部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドにpHN379、pHN380とそれぞれ名前を付けた。

【0110】

〔実施例6〕

pTipベクターの構築

pHN171、pHN348、pHN379、pHN380（実施例5）のPIP遺伝子の代わりに、MCSを導入し、8種類のpTipベクターを構築した過程を示す。なお、今回作成した、pTipベクターのうち、4つ（pTip-RT1、pTip-RT2、pTip-RC1、pTip-RC2；後述）は、参考例1に記載のpTipベクターとは、Rhodococcus属細菌でプラスミドが自律複製するのに必要なDNA領域が異なり、参考例1に記載のpTipベクター全てとRhodococcus属細菌内での不和合性を起こさない（後述）。また、残りの4つ（pTip-QT1、pTip-QT2、pTip-QC1、pTip-QC2；後述）は、参考例1に記載のpTipベクターとはMCSの配列が一部異なっている。

【0111】

配列表中の配列番号71、72に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドはMCS部位になる配列を含み、お互いに相補的な配列を持つ。これら2つを等モル量ずつ混合し、70℃で10分処理し、20分かけて室温に冷却し、2本鎖化させた（MCS type 1）。その結果、その末端はNcoIとSpeIで二重消化されたベクターと連結可能な状態になり、この2本鎖化した合成DNAをpHN379、pHN380のNcoI / SpeI部位にそれぞれサブクローンした。その結果できたプラスミドにpTip-RT1、pTip-RC1とそれぞれ名前をつけた。配列表中の配列番号73、74に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドを同様に2本鎖化させ（MCS type 2）、一方、pTip-LNH2（参考例1を参照）から0.2 kbのTipA遺伝子プロモーターとLG10-RBSを含む断片をBsrGIとNdeIで切り出した。これら2つのDNA断片を同時に、pHN379とpHN380のBsrGI / SpeI部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドにpTip-RT2、pTip-RC2と名前を付けた。pTip-RT1から0.3 kbのTipA遺伝子プロモーター、LG10-RBS、MCS type 1を含む断片をBsrGIとSpeIで切り出し、pHN171とpHN348のBsrGI / SpeI部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドにpTip-QT1、pTip-QC1と名前を付けた。pTip-RT2から0.3 kbのTipA遺伝子プロモーター、LG10-RBS、MCS type 2を含む断片をBsrGIとSpeIで切り出し、pHN171とpHN348のBsrGI / SpeI部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドにpTip-QT2、pTip-QC2と名前を付けた。

【0112】

図18-1にpTipベクター (pTip-QT1、pTip-QT2、pTip-RT1、pTip-RT2、pTip-QC1、pTip-QC2、pTip-RC1、pTip-RC2) のマップを示す。該図中、Thiorはチオストレプトン耐性遺伝子を、Tuf1pはTuf1遺伝子プロモーターを、Tetrはテトラサイクリン耐性遺伝子を、Chlrはクロラムフェニコール耐性遺伝子を (各pTip-ベクターはTuf1p-TetrまたはChlrいずれか一つを持つ)、ALDHpはTipA遺伝子 (TipA) を転写せしめるThcAプロモーターを、Amprはアンピシリン耐性遺伝子を、ColE1は大腸菌の複製起点を、ALDHt はThcA遺伝子転写終結配列を、MCSはマルチクロニング部位を (各pTip-ベクターはMCS type1またはMCS type 2のいずれか一つを持つ)、TipApはTipA遺伝子プロモーターを、TipA-LG10pはTipA-LG10プロモーターを、RepA&BはpRE2895由来のプラスミドのR. erythropolis内での自律複製に必須な領域を、RepはpRE8424由来のプラスミドのR. erythropolis内での自律複製に必須な領域を (各pTip-ベクターはRepA&BまたはRepのいずれか一つを持つ) 示す。なお、実施例9に書かれたpNitベクター (後述) の図が該図、右半分に記してあり、記号などは上記のものと同じである。

【0113】

図20は、TipA-LG10プロモーター - MCS - ThcA遺伝子ターミネーターのDNA配列を示す。該図中、実線の矢印はTipA遺伝子プロモーター中に存在するInverted repeat配列を示す。斜線の矢印はThcA遺伝子転写終結配列に存在するInverted repeat配列を示す。また、原核生物のプロモーター領域に一般的に存在し、遺伝子の転写に重要な-10領域、-35領域は四角で囲んである。また、四角で囲まれたTATAAT配列はTipA遺伝子プロモーターからNitプロモーターを作成したときに導入した変異を示す (実施例7に詳述)。

【0114】

〔実施例7〕

pHN231の構築

まず本発明者は、TipA遺伝子プロモーターに変異を導入して、誘導型から構成型プロモーターに改変することとした。TipA遺伝子プロモーター配列中の「Inverted repeat」領域にチオストレプトン - TipAタンパク質複合体が結合し、自らの遺伝子の転写を促進することは以前から知られていた (Holmes et al., EMBO

J. 12 3183-3191 [1993])。そこで、本発明者は該DNA領域に、inverted repeat 構造を破壊する変異を導入したら、TipA遺伝子プロモーターの転写活性に何らかの変化が現れるのではないかと考え、様々なTipA遺伝子プロモーター変異体を作成した。それらのうち、TipA遺伝子プロモーターの所謂-10領域 (Fenton and Gralla. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98 9020-9025 [2001]) に変異を導入したもの (図 19 ; CAGCGT から TATAAT への変異) では、チオストレプトン非存在下でも、レポーター遺伝子の発現が観察された (図 20 ; 実施例 10 に詳述)。なお、このTATAATからなるDNA配列は、大腸菌において非常に強力なプロモーターとして機能するDNA配列中の-10領域によく見られる配列である。以上のことからこの変異TipA遺伝子プロモーターは構成型プロモーターであると結論された。また、この構成型プロモーターにNit (Non-Inducible TipA ; 図中ではNitpと表記) プロモーターと名前を付けた。

【0115】

Nitプロモーターを構築した過程を以下に示す。pHN150u (参考例 1 を参照) をテンプレートとし、配列表中の配列番号 75 (sHN217)、76 (sHN218) に記載のプライマーを用いてインバースPCRにてDNAの増幅を行った。なお、pHN150uは、p Bluescript II SK (+) のMCSに、野生型TipA遺伝子プロモーターがクローン化されたプラスミドで、また上記2つのプライマーはその5'末端がそれぞれリン酸化されている。このインバースPCR断片をリガーゼ反応により自己閉環化し、結果出来たプラスミドにpHN231と名前を付けた。pHN231はNitプロモーターがp Bluescript II SK (+) のMCSにクローン化された形になっている。

【0116】

〔実施例 8〕

PIPをレポーター遺伝子として有する構成型発現ベクターの構築 ; pHN407、pHN385、pHN409、pHN389の構築

pTip-NH1 (参考例 1 を参照) をテンプレートとし、配列表中の配列番号 77 (sHN395)、78 (sHN396) に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた1.6 kbの断片はテトラサイクリン耐性遺伝子を含む。この断片をHpaIとKpnIで消化し、pHN379 (実施例 5) のHpaI / KpnI部位に導入した。こ

の結果出来たプラスミドにpHN381と名前を付けた。pHN346（実施例4）をテンプレートとし、配列表中の配列番号79（sHN397）、80（sHN398）に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた1.8 kbの断片はクロラムフェニコール耐性遺伝子を含む。この断片をHpaIとKpnIで消化し、pHN380（実施例5）のHpaI / KpnI部位に導入した。この結果出来たプラスミドにそれぞれpHN382と名前を付けた。pHN231（実施例7）から0.2 kbのNitプロモーターを含む断片をBsrGIとNcoIで切り出し、pHN381とpHN382のBsrGI / NcoI部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドにpHN383、pHN387とそれぞれ名前を付けた。pHN231（実施例7）をテンプレートとし、配列表中の配列番号81（sHN147）、82（sHN376）に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた0.2 kbの断片はNitプロモーターのうちRBS部分は含んでいない。この断片をBsrGIとXbaIで消化し、pHN381とpHN382のBsrGI / XbaI部位にそれぞれ導入した。この結果出来たプラスミドにpHN385、pHN389とそれぞれ名前を付けた。また、このNitプロモーター（RBS部分除く） - LG10RBSのハイブリッドDNAをNit-LG10プロモーターとする。pHN171をテンプレートとし、配列表中の配列番号83（sHN388）、84（sHN120）に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた1.9 kbの断片はpRE2895由来のRepABオペロンを含む。この断片をBsrGIとHpaIで消化し、pHN387とpHN389のBsrGI / HpaI部位にそれぞれ導入した。この結果出来たプラスミドにpHN407、pHN409とそれぞれ名前を付けた。

【0117】

またコントロール実験用プラスミドとして、pHN387から、0.2 kbのNitプロモーターをBsrGIとNcoIで切り出した。このDNA断片をpHN380（実施例5）のBsrGI / NcoI部位に導入した。この結果できたプラスミドにpHN410と名前を付けた。

【0118】

〔実施例9〕

pNitベクターの構築

pHN407、pHN385、pHN409、pHN389（実施例8）のPIP遺伝子の代わりに、MCSを導入し、8種類のpNitベクターを構築した過程を示す。

【0119】

pTip-RT1 (実施例 6) から 2.2 kb の断片を NcoI と KpnI で切り出し、pHN407、pHN385、pHN409、pHN389 の NcoI / KpnI 部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドに pNit-QT1、pNit-RT1、pNit-QC1、pNit-RC1 とそれぞれ名前を付けた。pHN385 (実施例 8) をテンプレートとし、配列表中の配列番号 81 (sHN147)、85 (sHN160) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 0.2 kb の断片は Nit-LG10 プロモーターを含む。この断片を BsrGI と NdeI で消化した。一方、pTip-RT2 (実施例 6) から、2.0 kb の MCS type 2、アンピシリン耐性遺伝子、ColE1 を含む断片を NdeI と KpnI で切り出した。上記 2 つの DNA 断片を同時に、pHN407、pHN385、pHN409、pHN389 (実施例 8) の BsrGI / KpnI 部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドに pNit-QT2、pNit-RT2、pNit-QC2、pNit-RC2 とそれぞれ名前を付けた。

【0120】

図 18-2 に pNit ベクター (pNit-QT1、pNit-QT2、pNit-RT1、pNit-RT2、pNit-QC1、pNit-QC2、pNit-RC1、pNit-RC2) のマップを示す。略号等は実施例 6 に記された通りである。

【0121】

〔実施例 10〕

TipA 遺伝子プロモーター、Nit プロモーターからの PIP の発現

pHN380、pHN410、pHN381、pHN387、pHN389 を用いて、pTip、pNit ベクター群からの遺伝子発現様式を観察した。以下に、その過程と結果を示す。

【0122】

まず、R. erythropolis JCM3201 株を pHN380、pHN410、pHN381、pHN387、pHN389 で、形質転換した。これら形質転換体を用いて PIP のペプチダーゼ活性を測定した。結果を図 20 に示す。

【0123】

図 20 中、形質転換に用いたプラスミドの名前とそれぞれの簡単な特徴が示されており、黒いバーはチオストレプトンで該形質転換体进行处理したとき、網掛けのバーはチオストレプトンで該形質転換体进行处理しなかったときの PIP のペプチダーゼ活性を示す。pHN380 (TipA-LG10 プロモーター - PIP からなる遺伝子カセッ

トをpTipベクターの骨格に持つ)での形質転換体はチオストレプトンによる遺伝子発現制御が働いているが、pHN410 (Nitプロモーター - PIPからなる遺伝子カセットをpTipベクターの骨格中に持つ)での形質転換体はチオストレプトンによる遺伝子発現制御が働いていない。また、pHN387はpHN410からチオストレプトン耐性遺伝子と、ThcA遺伝子プロモーター - TipA遺伝子からなる遺伝子カセットを取り除いた形のプラスミドであるが、このプラスミドでの形質転換体もチオストレプトンがなくても、PIPが発現していた。つまり、TipAタンパク質がなくても、Nitプロモーターからの遺伝子発現がおこることを意味する。pHN387、pHN389による形質転換体を用いた結果から、RBSの配列はチオストレプトンによる遺伝子発現制御には関係ないことが示唆された。pHN381はpHN389のNit-LG10プロモーターをTipA-LG10プロモーターに置換したものであるが、pHN381での形質転換体ではPIPの発現は構成的になっていない。以上のことから、Nitプロモーター、Nit-LG10プロモーターが構成型のプロモーターで、その発現にTipAタンパク質を必要としないことがわかる。

【0124】

なお、pTip、pNitベクターからのPIPの発現は30℃ばかりでなく、4℃でも可能であったことを確認した。

【0125】

〔実施例11〕

pRE2585、pRE8424由来プラスミドの自律複製に必須な領域の比較

pTipベクターとpNitベクター群を用いて、pRE2585、pRE8424由来プラスミドの自律複製に必須な領域の特徴を調べた。

【0126】

まず、pNit-QC2とpNit-RC2のR. erythropolis JCM 3201, R. fascians JCM10002, R. opacus DSM44193, R. ruber JCM3205 and R. rhodochrous JCM3202に対する形質転換効率を調べた。結果を表3に示す。表3では各1 μ gのプラスミドDNAを用いて形質転換した時に、クロラムフェニコールを含む固体培地上に出現したコロニー数を示す。この結果から、R. erythropolis JCM 3201, R. fascians JCM10002, R. opacus DSM44193では、効率の差はあるものの、pNit-QC2とpNit-R

C2、いずれでも形質転換が可能であることがわかった。なお、R. ruber JCM3205、R. rhodochrous JCM3202では形質転換体は得られなかった。

【0127】

次にpHN409とpHN389（実施例9）でR. erythropolis JCM 3201、R. fascians JCM10002、R. opacus DSM44193を形質転換した。なお、pHN409とpHN389の違いは自律複製に必須な領域がpRE2585に由来するかpRE8424に由来するか、だけである。R. erythropolis JCM3201において、pHN409で形質転換した細胞と、pHN389で形質転換した細胞とで、PIPペプチダーゼ活性を比較したところ、ほとんど差がないか、若干pHN409で形質転換した細胞の方が高かった。この結果は、R. fascians JCM10002、R. opacus DSM44193を宿主とした場合でもほぼ同様であった。また、R. erythropolis JCM3201でのPIPペプチダーゼ活性よりもR. fascians JCM10002、R. opacus DSM44193でのPIPペプチダーゼ活性の方がいずれのプラスミドを用いた場合でも低かった。

【0128】

次にpNit-QC2とpNit-RC2のR. erythropolis JCM 3201細胞内でのプラスミドコピー数を調べた。実験手法はProjanらの方法（Projan et al., Plasmid 9 182-190 [1983]）に従った。この方法でプラスミドコピー数を計算するためにはR. erythropolis JCM 3201のゲノムサイズを知る必要があるが、van der Geizeらによれば、R. erythropolis ATCC4277株から派生した株、R. erythropolis RG1株のゲノムサイズが6メガベースペア（Mbp）であり、かつ、R. erythropolis ATCC 4277株とR. erythropolis JCM 3201株がほぼ同等の菌株であることから、R. erythropolis JCM 3201株のゲノムサイズも6 Mbpとして計算した。結果は、pNit-QC2が、 47 ± 5 、pNit-RC2が、 64 ± 5 のコピー数であった。

【0129】

〔実施例12〕

プラスミド不和合性

細菌では一般に、同一の複製起点を持つ異種プラスミドは細胞内に共存できないことが多い。これはプラスミド不和合性（plasmid incompatibility）と呼ばれる現象によるもので（Novick, Microbiol. Rev. 51 381-395 [1987]）、Rhodo

coccus属細菌と近縁のMycobacterium属でも報告されている (Stolt and Stoker, Microbiology 142 2795-2802 [1996])。本発明者は、配列の異なる2つのR. erythropolis内在性プラスミドを分離したことから (pRE2895とpRE8424)、複数のプラスミドを単一細胞内に共存させ、組換えタンパク質生産に利用できると考えた。そこで、まず、pTip-、pNit-ベクター群のプラスミド不和合性について調べた。

【0130】

R. erythropolis JCM 3201に対して、pNit-QC2またはpNit-RC2で第一の形質転換を行い、さらに、これらの形質転換体細胞に対してpNit-QT2またはpNit-RT2で第二の形質転換を行った。第二の形質転換後は、テトラサイクリンのみを含むLB固体培地で形質転換体を選択した。結果を表4に示す。表4中、右から二番目のカラムは、各1 μ gのプラスミドDNAを用いて第二の形質転換した時に、テトラサイクリンを含む固体培地上に出現したコロニー数を示す。一番右のカラムは、第二の形質転換後に、第一の形質転換に用いたプラスミドが残っていたコロニーの確率(%)、即ち、第二の形質転換後にテトラサイクリン耐性だったコロニーの出現率を示す。その際、調べたコロニー数は各20コロニー ($n = 20$) である。表4に示されたように、同じ複製起点を持つ2つのプラスミドを用いた場合、第二の形質転換効率が極端に低下したこと、第二の形質転換後に第一の形質転換プラスミドが高頻度に消失していることから、不和合性を引き起こしたといえる。それに対して、別種の複製起点を持つ2つのプラスミドでは、第二の形質転換効率が低下しなかったこと、第二の形質転換後にも第一の形質転換プラスミドが安定に存在していることから不和合性を起こさなかったことが示唆された。つまり、pRE2585から派生したプラスミドと、pRE8424から派生したプラスミドは完全に「compatible」であるといえる。

【0131】

〔実施例13〕

組換えタンパク質の単一細胞内での共発現

実施例12に書かれたようにpRE2585から派生したプラスミドと、pRE8424から派生したプラスミドは完全にcompatibleで、一つのR. erythropolis細胞内に共

存可能であった。このことを利用して、PIPとGFPの単一細胞内での共発現を試みた。

【0132】

まず、pHN187 (参考例1を参照) をテンプレートとし、配列表中の配列番号86 (sHN337)、87 (sHN338) に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた0.2 kbの断片はGFP遺伝子の5'末端側を含む。この断片をNcoIで消化し、この断片の5'末端をリン酸化した。一方、pHN187をテンプレートとし、配列表中の配列番号88 (sHN339)、89 (sHN340) に記載のプライマーを用いて、PCRによるDNAの増幅を行った。得られた0.5 kbの断片はGFP遺伝子の3'末端側を含む。この断片をBglIIで消化し、その5'末端をリン酸化した。これら2つのDNA断片を同時にpNit-QT1とpNit-RT1のNcoI / BglII部位にそれぞれ導入し、できたプラスミドにそれぞれpHN425、pHN426と名前を付けた。pHN425、pHN426は全長のGFP遺伝子含み、GFPのC末端側に6×Hisタグが付加されるような配列が融合されている。また、GFP遺伝子内部に存在していたNcoI部位は上記作業中に除かれているが、GFPの機能に変化はない。

【0133】

pHN425とpHN389で、*R. erythropolis* JCM3201を共形質転換し、形質転換体をテトラサイクリンとクロラムフェニコール両方を含む培地で選択した。また、pHN426とpHN409で、*R. erythropolis* JCM3201を形質転換し、共形質転換体をテトラサイクリンとクロラムフェニコール両方を含む培地で選択した。また、対照実験として、pHN425、pHN426、pHN389、pHN409で*R. erythropolis* JCM3201をそれぞれ形質転換した。これら6種類の形質転換体を実施例1に記載されたようにしてPIPとGFPを発現させ、ニッケルイオンを用いた金属キレートクロマトグラフィーで精製した。組換えタンパク質の精製、精製前並びに精製後のサンプルのSDSポリアクリルアミド電気泳動は以下の方法で行った。PIPのC末端には6×Hisタグがついており、Ni-NTA Superflow (Qiagen社製) を用いて、その使用説明書に準じて精製を行った。

【0134】

以下に具体的な精製法を示すが、精製の作業は4℃で行った。タンパク質を発

現させた菌体 (20 ml培養液分) を回収し、1 mlのNT-Buffer (50 mM Tris-HCl (pH 8.0)、100 mM塩化ナトリウム、1 mMジチオスレイトール) に懸濁し、1 gのガラスビーズ (直径0.105-0.125ミリメートル) を加えた。これをFast-prep F P120 (SAVANT社製) にて6 m/秒の速度、20秒間往復振とう運動させることで、細胞を破壊した。20,000×gにて遠心し、その上清700 μ lに、予めNT-Bufferで平衡化されたNi-NTA Superflowをベッド体積40 μ lになるように加えた。これを1時間回転攪拌しながらNi-NTA Superflowビーズと6×Hisタグのついたタンパク質とを結合させた。このビーズをNT-Bufferで4回洗浄した後、120 μ lのNTE-Buffer (50 mM Tris-HCl (pH 7.0)、100 mM塩化ナトリウム、1 mMジチオスレイトール、400 mMイミダゾール) に3回懸濁することで、ビーズから6×Hisタグのついたタンパク質を溶出させた。上記サンプルのうち10 μ lを常法に従い、12% SDSポリアクリルアミド電気泳動に供した。SDSポリアクリルアミド電気泳動結果後、ゲルをクマシーブリリアントグリーンG-250で染色した結果を図21に示した。

【0135】

図21中、奇数番号のレーンは細胞の粗抽出液 (即ち、精製前のサンプル)、偶数番号のレーンは金属キレートクロマトグラフィーで精製した後のサンプルを示す。また、レーン1, 2はpHN425とpHN389で共形質転換した*R. erythropolis* JC M3201からのサンプル、レーン3, 4はpHN426とpHN409で共形質転換した細胞からのサンプル、レーン5, 6はpHN425で形質転換した細胞からのサンプル、レーン7, 8はpHN426で形質転換した細胞からのサンプル、レーン9, 10はpHN389で形質転換した細胞からのサンプル、レーン11, 12はpHN409で形質転換した細胞からのサンプルである。

【0136】

図21のレーン2と4に2本のバンドが見られることから、PIP、GFPが、単一の細胞内で共発現され、精製されたことが示された。また、共発現させたとき (レーン2, 4) と、それぞれ単独で発現させたとき (レーン6, 8, 10, 12) のPIP、GFPの発現量に大きな差異は見られなかった。

【0137】

表1に実施例で用いた各プラスミドのリストを、表2に実施例で用いた菌株のリストを、表3にpNit-QC2とpNit-RC2のR. erythropolis JCM 3201, R. fascians JCM10002, R. opacus DSM44193に対する形質転換効率を、表4にpNit-QC2、pNit-RC2、pNit-QT2、pNit-RT2によるR. erythropolis JCM 3201への共形質転換の結果を示す。

【0138】

【表 1】

本発明に用いた主なプラスミド

分類	プラスミド名	備考	ソース
Cryptic plasmids of <i>R. erythropolis</i>	pRE2895	Source of <i>RepAB</i> (cryptic plasmid isolated from <i>R. erythropolis</i> JCM2895)	特願 2002-235008
	pRE8424	Source of <i>Rep</i> (cryptic plasmid isolated from <i>R. erythropolis</i> DSM8424)	This study
	PRE2893	Cryptic plasmid isolated from <i>R. erythropolis</i> JCM2893	This study
	PRE2894	Cryptic plasmid isolated from <i>R. erythropolis</i> JCM2894	This study
	PRE43200	Cryptic plasmid isolated from <i>R. erythropolis</i> DSM43200	This study
For identification of DSO and SSO of pRE8424	pHN267	<i>Kan^r</i> on pGEM 3Zf(+)	This study
	pHN317	<i>Rep</i> , DSO, IR I, IR II (SSO) on pHN267	This study
	pHN345	<i>Rep</i> , DSO, mutated IR I, IR II (SSO) on pHN267	This study
	pHN362	<i>Rep</i> , DSO, IR I, mutated IR II on pHN267	This study
	pHN363	<i>Rep</i> , DSO, mutated IR I, mutated IR II on pHN267	This study
	pHN322	<i>Rep</i> , DSO, IR I, IR II (SSO) on pHN267	This study
	pHN343	<i>Rep</i> , DSO, IR II (SSO) on pHN267	This study
	pHN344	<i>Rep</i> , DSO, IR I, IR II (SSO) on pHN267	This study
	pHN324	<i>Rep</i> , IR I, IR II (SSO) on pHN267	This study
Source of <i>Rep</i> region for pTip- and pNit- vectors	pHN372	2.0-kb region originating from pRE8424 on pBluescript SK (+), <i>Bam</i> HI site is eliminated	This study
pTip-vectors	pTip-QT1	<i>P_{TipA'}</i> , <i>Tet^r</i> , <i>RepAB</i> (pRE2895), MCS type 1	This study
	pTip-QT2	<i>P_{TipA'}</i> , <i>Tet^r</i> , <i>RepAB</i> (pRE2895), MCS type 2	This study
	pTip-RT1	<i>P_{TipA'}</i> , <i>Tet^r</i> , <i>Rep</i> (pRE8424), MCS type 1	This study
	pTip-RT2	<i>P_{TipA'}</i> , <i>Tet^r</i> , <i>Rep</i> (pRE8424), MCS type 2	This study
	pTip-QC1	<i>P_{TipA'}</i> , <i>Chl^r</i> , <i>RepAB</i> (pRE2895), MCS type 1	This study
	pTip-QC2	<i>P_{TipA'}</i> , <i>Chl^r</i> , <i>RepAB</i> (pRE2895), MCS type 2	This study

	pTip-RC1	P_{TipA} , Chf^+ , Rep (pRE8424), MCS type 1	This study
	pTip-RC2	P_{TipA} , Chf^+ , Rep (pRE8424), MCS type 2	This study
pNit-vectors	pNit-QT1	P_{Nit} Tet^r , $RepAB$ (pRE2895), MCS type 1	This study
	pNit-QT2	P_{Nit} Tet^r , $RepAB$ (pRE2895), MCS type 2	This study
	pNit-RT1	P_{Nit} Tet^r , Rep (pRE8424), MCS type 1	This study
	pNit-RT2	P_{Nit} Tet^r , Rep (pRE8424), MCS type 2	This study
	pNit-QC1	P_{Nit} Chf^+ , $RepAB$ (pRE2895), MCS type 1	This study
	pNit-QC2	P_{Nit} Chf^+ , $RepAB$ (pRE2895), MCS type 2	This study
	pNit-RC1	P_{Nit} Chf^+ , Rep (pRE8424), MCS type 1	This study
	pNit-RC2	P_{Nit} Chf^+ , Rep (pRE8424), MCS type 2	This study
PIP expression vectors	pHN171	6xHis-PIP in MCS of pTip-LCH1	特願 2002-235008
	pHN379	6xHis-PIP in MCS of pTip-RT1	This study
	pHN348	6xHis-PIP in MCS of pTip-QC1	This study
	pHN380	6xHis-PIP in MCS of pTip-RC1	This study
	pHN407	6xHis-PIP in MCS of pNit-QT1	This study
	pHN385	6xHis-PIP in MCS of pNit-RT1	This study
	pHN409	6xHis-PIP in MCS of pNit-QC1	This study
	pHN389	6xHis-PIP in MCS of pNit-RC1	This study
	pHN410	P_{TipA} and LG10-RBS of pHN380 were substituted into P_{Nit} and wild-type TipA-RBS, respectively	This study
	pHN387	LG10-RBS of pHN389 was substituted into wild-type RBS of TipA-RBS	This study
GFP expression vectors	pHN425	6xHis-GFP in MCS of pTip-QT1	This study
	pHN426	6xHis-GFP in MCS of pTip-RT1	This study

【0139】

【表 2】

本発明に用いた主な菌株

属、種	菌株	ソース	適用
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	JCM2895	Japan Collection of Microorganisms	Source of pRE2895
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	DSM8424	German Collection of Microorganisms and Cell Cultures	Source of pRE8424
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	JCM2893	Japan Collection of Microorganisms	Source of pRE2893
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	JCM2894	Japan Collection of Microorganisms	Source of pRE2894
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	DSM43200	German Collection of Microorganisms and Cell Cultures	Source of pRE43200
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	JCM3201	Japan Collection of Microorganisms	Host strain to express recombinant proteins
<i>Rhodococcus fascians</i>	JCM10002	Japan Collection of Microorganisms	Host strain to express recombinant proteins
<i>Rhodococcus opacus</i>	DSM44193	German Collection of Microorganisms and Cell Cultures	Host strain to express recombinant proteins
<i>Rhodococcus ruber</i>	JCM3205	Japan Collection of Microorganisms	Host strain to express recombinant proteins
<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	JCM3202	Japan Collection of Microorganisms	Host strain to express recombinant Proteins
<i>Streptomyces coelicolor</i>	JCM4979	Japan Collection of Microorganisms	Source of <i>dnak</i> transcription terminator
<i>Escherichia coli</i>	DH5α		General cloning
<i>Escherichia coli</i>	ER2508	New England Biolabs	Source of <i>Kan^r</i>

【0140】

【表 3】

pNit-QC2 と pNit-RC2 の形質転換効率

プラスミド	宿主細胞		
	<i>R. erythropolis</i>	<i>R. fascians</i>	<i>R. opacus</i>
pNit-QC2	3.8×10^5	8.2×10^2	1.6×10^4
pNit-RC2	2.8×10^5	4.0×10^2	5.2×10^2

【0141】

【表 4】

R.erythropolis JCM 3201 株におけるプラスミド不和合性

第一の形質転換に用いたプラスミド	第二の形質転換に用いたプラスミド	第二の形質転換の効率	第一の形質転換に用いたプラスミドが残っていたコロニーの率 (%; $n = 20$)
なし	pNit-QT2	3.2×10^5	-
pNit-QC2	pNit-QT2	2.0×10^3	50
pNit-RC2	pNit-QT2	1.3×10^5	100
なし	pNit-RT2	4.4×10^4	-
pNit-QC2	pNit-RT2	3.3×10^4	100
pNit-RC2	pNit-RT2	2.4×10^2	65

【0142】

【発明の効果】

本発明の新規なローリングサークル型の複製様式で複製し得るベクターであつて、Rhodococcus属細菌中で外来遺伝子を 4℃から 35℃の温度条件下で誘導物質により誘導発現しうる発現ベクターおよび外来遺伝子を誘導物質非依存的に構成的に発現し得るベクターを用いることにより、効率的にRhodococcus属細菌で外来タンパク質を産生させることができ、特に宿主微生物として低温でも増殖し得る微生物を用いることにより、通常の微生物の増殖に適した温度条件、即ち約15℃を超える中高温で発現させることが困難であるかまたは不可能なタンパク質を発現産生させることが可能である。さらに、互いにプラスミド不和合性を起こさない少なくとも 2 種類のRhodococcus属細菌由来の発現プラスミドベクターであつて、少なくとも 2 種類のプラスミドが、プラスミドの自律複製に必要な DNA 配列として、それぞれローリングサークル型複製様式をもつ DNA 配列と、pRE258 由来のプラスミドの自律複製に必要な DNA 配列を有するベクターは不和合性の問題を起こすことなく、同一の微生物細胞中で安定に維持され、それぞれのベクターが含む外来遺伝子がコードするタンパク質を同一の微生物細胞中で共発現させることが可能である。

【0143】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Advanced Industrial Science and Technology

<120> A method for producing a recombinant protein by using a single or plural vectors in a bacterium belonging to genus Rhodococcus

<130> 341H03001

<140>

<141>

<160> 107

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN1

<400> 1

cagagctcgt caggtggcac ttttc

25

<210> 2

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN2

<400> 2

gttgtagaac tagtcgtgcc agctgcatta

30

<210> 3

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN120

<400> 3

gctgtacacc cgagaagctc ccagcg

26

<210> 4

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN121

<400> 4

cggagctctt gaacgagagt tggccgttg

29

<210> 5

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN122

<400> 5

tcagatctat cgtcacgcac tgcgatcacg ttgacgccg

39

<210> 6

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN123

<400> 6

acggatcctc cgctgaaatc tcgccgtgcc t

31

<210> 7

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN130

<400> 7

cttcatatgc ggagctcgac cgcgcggg

28

<210> 8

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN131

<400> 8

atcgagtcgt tcaagggcgt cggc

24

<210> 9

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NEB1233

<400> 9

agcggataac aatttcacac agg

23

<210> 10

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN10

..

<400> 10

caccaggatg atccccgac

19

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN11

<400> 11

gacagtgaca tcaccagc

18

<210> 12

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NEB1224

<400> 12

cgccagggtt ttcccagtca cgac

24

<210> 13

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN40

<400> 13

atgagctact ccgtgggaca ggtg

24

<210> 14

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN41

<400> 14

tgcagatctt ccgtttcgac gtgacggag

29

<210> 15

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN42

<400> 15

cagtctagaa ttgatctcct cgaccg

26

<210> 16

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN43

<400> 16

tgcaagctcc tatgtaaacg

20

<210> 17

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN55

<400> 17

cgcctgctcc acggccgcc

19

<210> 18

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN56

<400> 18

atggaggcac gcagcatg

18

<210> 19

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN57

<400> 19

cgccccctcg gagtcggcg

19

<210> 20

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN58

<400> 20

atggacgccg ccgaggac

18

<210> 21

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN147

<400> 21

cgtgtacata tcgaggcggg ctccca

26

<210> 22

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN39

<400> 22

atccatggcc gctcccttct ctgacgccgt c

31

<210> 23

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN36

<400> 23

accatggatc aggaatgcat ag

22

<210> 24

<211> 59

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN37

<400> 24

ttactagttt attaatgatg atgatgatga tgcaggtgtt tcaggatgaa atccgaaag 59

<210> 25

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN6

<400> 25

cgcttagagt cccgctgagg cggcgtagc

29

<210> 26

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN9

<400> 26

ctactagtcg acccaccggc acccgtgag

29

<210> 27

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN141

<400> 27

aatctagagt aacgggctac tccgtttaac

30

<210> 28

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN142

<400> 28

gggtcgacgg tcctcctgtg gagtggttct

30

<210> 29

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN145

<400> 29

gcactcgaga tgaaatctaa caatgcgctc atc

33

<210> 30

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN152

<400> 30

agactagtcc tcaacgacag gagcacgac

30

<210> 31

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer T7

<400> 31

gtaatacgac tcactatagg gc

22

<210> 32

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN153

<400> 32

aatccacagg acgggtgtgg

20

<210> 33

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN154

<400> 33

ctctacgccg gacgcatcg

19

<210> 34

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer T3

<400> 34

gcaattaacc ctcactaaag gg

22

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN155

<400> 35

acgacgctct cccttatgcg

20

<210> 36

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN156

<400> 36

ccgatgccct tgagagcct

19

<210> 37

<211> 67

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN110

<400> 37

aaccatggta tatctccttc ttaaagttaa acaaaattat ttctagacgc cgtccacgct 60
gcctcct 67

<210> 38

<211> 77

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NNcol

<400> 38

catgggccac catcaccatc accatatggg aattctacgt agcggccgcg gatccaagct 60
tagatctcga ggatgaa 77

<210> 39

<211> 77

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NNco2

<400> 39

ctagttcatc ctcgagatct aagcttggat ccgcggccgc tacgtagaat tcccatatgg 60
tgatgggtgat ggtggcc 77

<210> 40

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer CNco1

<400> 40

catgggaatt ctacgtagcg gccgcggatc caagcttaga tctcgaggac atcaccatca 60
ccatcactga a 71

<210> 41

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer CNco2

<400> 41

ctagttcagt gatggtgatg gtgatgtcct cgagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 60
cgtagaattc c 71

<210> 42

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN159

<400> 42

tccatatgcg ctcccttctc tgacgccgt 29

<210> 43

<211> 80

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NNdel

<400> 43

tatgggccat caccatcacc atcacgccat gggaattcta cgtacgggcc gcggatccaa 60
gcttagatct cgaggatgaa 80

<210> 44

<211> 82

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NNde2

<400> 44

ctagttcatc ctcgagatct aagcttggat ccgcggccgc tacgtagaat tcccatggcg 60
tgatggtgat ggtgatggcc ca 82

<210> 45

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer CNdel

<400> 45

tatgggaatt ctacgtagcg gccgcggatc caagcttaga tctcgaggac atcaccatca 60
ccatcactga a 71

<210> 46

<211> 73

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer CNde2

<400> 46

ctagttcagt gatggtgatg gtgatgtcct cgagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 60
cgtagaattc cca 73

<210> 47

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN160

<400> 47

aacatatgta tatctccttc ttaaagttaa ac 32

<210> 48

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN343

<400> 48

aaactagttc agtgatggtg atggtgatgc tcgagagatc t

41

<210> 49

<211> 8166

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-NH1

<400> 49

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtagggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaattccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgggccggg gtggagtcca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttcatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgctcg gagcgtcggg 600

gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgagc cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgctgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca ttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaag aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg ttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgctctgtt cctcggacgc tcggttctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgctttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaacc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa cactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggtactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgtatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcaccggtt ctcggagcac tgtccgacc ctttggccgc cgcccagtcc tgctcgcttc 1560
gctacttga gccactatcg actacggat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccga cgcacgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcccta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttccgggtca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttcttgcgg cggcgggtgt caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaatacag gactcgata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaacc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgt gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgga cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcttggtcc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcattggcg ccgacgcgt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttccca ttatgattct tctcgcttc ggcggcatcg ggatgccgcg 2280
gttcaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacct caggacagc ttcaaggatc 2340

gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcgc gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgta 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcagggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccggg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcaccggc 3420
gttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gaccccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcgggt ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactcccg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcgttgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgccgcggaac ccctatttgt ttatcttctt aaatacatc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ctttctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080

tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccggt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgccca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaa 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcagg 4620
ctggctgggt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcg ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatgggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgtgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc ttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag acccctaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttctg gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggctcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820

ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgctgtttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gtcacgggt gccgggtgggt 6000
cgactagttc atcctcgaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag aattcccata 6060
tggtgatggg gatgggtggc catggccgct cccttctctg acgccgtcca cgctgcctcc 6120
tcacgtgacg tgaggtgcaa gcccggacgt tccgcgtgcc acgccgtgag ccgccgcgtg 6180
ccgtcggctc cctcagcccg ggcggccgtg ggagcccgc tcgatatgta caccgagaa 6240
gtcccagcg tctcctggg ccgcgatact cgaccaccac gcacgcacac cgcactaacg 6300
attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat tcggccggcg 6360
ctcgattcgg ccggcgctcg attcggccga gcagaagagt gaacaaccac cgaccacgt 6420
tccgctctgc gcgccgtacc cgacctact cccgcagctc gaagcagctc ccgggagtag 6480
cgccgtactc acccgctgt gtcaccatc caccgacga aagcccaacc cgagcacacc 6540
tcttgacca aggtgccgac cgtggctttc cgctcgcagg gttccagaag aaatcgaacg 6600
atccagcgcg gcaaggttca aaaagcaggg gttggtgggg aggaggtttt ggggggtgtc 6660
gccgggatac ctgatatggc tttgttttgc gtagtcgaat aattttccat atagcctcgg 6720
cgctcggac tcgaatagtt gatgtggcg ggcacagttg ccccatgaaa tccgaacgg 6780
ggggcggtgt gagcgatcgg caatggcgcg atgcggtgtt gttccgcac cggccgttcg 6840
cgacgaacaa cctccaacga ggtcagtacc ggatgagccg cgacgacga ttggcaatgc 6900
ggtacgtcga gcattaccg cacgcgttg tcggatctat cgtcatcgac tgcgatcacg 6960
ttgacgccgc gatgcgcga ttcgagcaac catccgacca tccggcgccg aactgggtcg 7020
cacaatcgcc gtccggccgc gcacacatcg gatggtggct cggccccaac cacgtgtgcc 7080
gcaccgacag cggccgactg acgccactgc gctacgcca ccgcatcgaa accggcctca 7140
agatcagcgt cggcgccgat ttcgcgtatg gcgggcaact gacaaaaaac ccgattcacc 7200
ccgattggga gacgatctac ggcccggcca cccgtacac attgcggcag ctggccacca 7260
tccacacacc ccggcagatg ccgcgtcggc ccgatcgggc cgtgggcctg ggccgcaacg 7320
tcaccatgtt cgacgccacc cggcgatggg catacccgca gtggtggcaa caccgaaacg 7380
gaaccggccg cgactgggac catctcgtcc tgcagcactg ccacgccgc aacaccgagt 7440
tcacgacacc actgccgttc accgaagtac gcgccaccgc gcaatccatc tccaaatgga 7500
tctggcgcaa tttcaccgaa gaacagtacc gagcccgaca agcgcattc ggtcaaaaag 7560

gcggaagc aacgacactc gccaaacaag aagccgtccg aaacaatgca agaaagtacg 7620
acgaacatac gatgcgagag gcgattatct gatggcgga gccaaaaatc cgggtgcgccg 7680
aaagatgacg gcagcagcag cagccgaaaa attcggtgcc tccactcgca caatccaacg 7740
cttgtttgct gagccgctg acgattacct cggccgtgcg aaagctcgcc gtgacaaagc 7800
tgtcgagctg cggaagcagg ggttgaagta ccgggaaatc gccgaagcga tggaactctc 7860
gaccgggatc gtcggccgat tactgcacga cggccgagg cacggcgaga tttcagcgga 7920
ggatctgtcg gcgtaaccaa gtcagcgggt tgtcgggttc cggccggcgc tcggcactcg 7980
gaccggccgg cggtatggtgt tctgcctctg gcgcagcgtc agctaccgcc gaaggcctgt 8040
catcgaccgg cttcgactga agtatgagca acgtcacagc ctgtgattgg atgatccgct 8100
cacgctcgac cgctacctgt tcagctgccg cccgctgggc atgagcaacg gccaaactctc 8160
gttcaa 8166

<210> 50

<211> 8169

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-NH2

<400> 50

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcggccggg gtggagtcca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420

caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcacgcgcc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcggac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtctttctcc tttccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgcctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac ccggttctca cgctttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaacct ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa cactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgtatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcaccggtt ctccggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cggccagtcc tgctcgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcacgtggt ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcccta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgcgg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaatagcag gagtgcgata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag cttcaacct 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgga cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tctactggctc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160

cattatcgcc ggcacggcgg ccgacgcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgacgcgcg 2220
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgcccgc 2280
gttgcaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacat caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgta cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcacggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctcga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgctgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggaggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcgggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgacccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcgggt ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tactcccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgccggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatc aaatatgtat ccgctcatga 3900

gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctggt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcc 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaa 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacggt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcgg 4620
ctggctgggt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcg ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatgggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttcac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagacc gtagttaggc caccattca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatactcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttctg gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgaggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640

tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcatatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtcctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagtgc atcctcgaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag aattcccatg 6060
gcgtgatggt gatggtgatg gcccatatgc gtccttct ctgacgccgt ccacgtgcc 6120
tcctcacgtg acgtgagggt caagcccga cgttcgcgt gccacgccgt gagccgccgc 6180
gtgccgtcgg ctccctcagc ccgggcggcc gtgggagccc gcctcgatat gtacaccga 6240
gaagctcca gcgtcctcct gggccgcgat actcgaccac cagcacgca caccgacta 6300
acgattcggc cggcgctcga ttccggccggc gctcgattcg gccggcgctc gattcggccg 6360
gcgtcgtatt cggccggcgc tcgattcggc cgagcagaag agtgaacaac caccgaccac 6420
gcttcgcctc tgcgcgccgt acccgacct cctcccgcag ctcgaagcag ctcccgggag 6480
taccgccgta ctacccgcc tgtgtcacc atccaccgac gcaaagcca acccgagcac 6540
acctcttgca ccaaggtgcc gaccgtggct ttccgctgc agggttccag aagaaatcga 6600
acgatccagc gcggcaaggt tcaaaaagca ggggttgggt gggaggagggt tttgggggggt 6660
gtcgccggga tacctgatat ggctttgttt tgcgtagtcg aataattttc catatagcct 6720
cggcgcgctc gactcgaata gttgatgtgg gcgggcacag ttgccccatg aaatccgcaa 6780
cggggggcgt gctgagcgat cggcaatggg cggatgcgt gttgcttcg caccggccgt 6840
tcgcgacgaa caacctcaa cgaggtcagt accgatgag ccgcgacgac gcattggcaa 6900
tgcggtacgt cgagcattca ccgcacgct tgctcggatc tatcgtcatc gactgcgac 6960
acgttgacgc cgcgatgcgc gcattcgagc aaccatccga ccatccggcg ccgaactggg 7020
tcgcacaatc gccgtccggc cgcgcacaca tcggatgggt gctcggcccc aaccacgtgt 7080
gccgcaccga cagcggccga ctgacgccac tgcgtacgc ccaccgcatc gaaaccggcc 7140
tcaagatcag cgtcggcggc gatttcgct atggcgggca actgacaaa aaccgattc 7200
accccgattg ggagacgac tacggcccgg ccaccccgta cacattgcgg cagctggcca 7260
ccatccacac acccggcgag atgccgcgtc ggcccgatcg ggccgtgggc ctgggccgca 7320
acgtcaccat gttcgacgcc accggcgat gggcataccc gcagtgggtg caacaccgaa 7380

acggaaccgg ccgcgactgg gaccatctcg tcctgcagca ctgccacgcc gtcaacaccg 7440
agttcacgac accactgccg ttcaccgaag tacgcgccac cgcgcaatcc atctccaaat 7500
ggatctggcg caatttcacc gaagaacagt accgagcccg acaagcgcat ctcgggtcaaa 7560
aaggcggcaa ggcaacgaca ctgcccaaac aagaagccgt ccgaaacaat gcaagaaagt 7620
acgacgaaca tacgatgcga gaggcgatta tctgatgggc ggagccaaaa atccggtgcg 7680
ccgaaagatg acggcagcag cagcagccga aaaattcggg gcctccactc gcacaatcca 7740
acgcttgttt gctgagccgc gtgacgatta cctcggccgt gcgaaagctc gccgtgacaa 7800
agctgtcgag ctgcggaagc aggggttgaa gtaccgggaa atcgccgaag cgatggaact 7860
ctcgaccggg atcgtcggcc gattactgca cgacgcccgaggcacggcg agatttcagc 7920
ggaggatctg tcggcgtaac caagtcagcg gggtgtcggg ttccggccgg cgctcggcac 7980
tcggaccggc cggcggtatg tgttctgcct ctggcgcagc gtcagctacc gccgaaggcc 8040
tgtcatcgac cggcttcgac tgaagtatga gcaacgtcac agcctgtgat tggatgatcc 8100
gctcacgctc gaccgctacc tgttcagctg ccgcccgtg ggcatgagca acggccaact 8160
ctcgttcaa 8169

<210> 51

<211> 8160

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-CH1

<400> 51

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttgggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccg cgtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240

gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccctca tgcacagcat 300
cgcgccggg gtggagtcca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacggggg 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcggac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgctgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgcctt 720
cattcggggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca ttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttcgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac ccggttctca cgctttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaacct ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa cactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggtactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgtatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcaccggtt ctggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgctc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcatcgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgcgg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaatagcag gagtgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag cttcaacct 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980

ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgca cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactgggtcc cgccacaaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgcccgc 2280
gttcgaggcc atgtgtgcca ggcaggtaga tgacgacat caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgta cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctcga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaacct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcggt gcgcacgtg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgacccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtaac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atgcccgc accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgctc cggcacaccc 3660
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactcccg 3720

gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcgggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ctttcctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcgggtgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgccca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcggga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacggt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggttaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgatitaa aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag acccctaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccattca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460

ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccg gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagttc agtgatgggt atgggtgatgt cctcgagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatggc cgctcccttc tctgacgccg tccacgtgc ctctcacgt 6120
gacgtgaggt gcaagcccgg acgttccgcg tgccacgccg tgagccgccg cgtgccgtcg 6180
gctccctcag cccggggcggc cgtgggagcc cgcctcgata tgtacaccg agaagctccc 6240
agcgtcctcc tgggccgcga tactcgacca ccacgcacgc acaccgact aacgattcgg 6300
ccggcgctcg attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat 6360
tcggccggcg ctcgattcgg ccgagcagaa gagtgaacaa ccaccgacca cgcttccgct 6420
ctgcgcgccg tacccgacct acctcccgca gctcgaagca gctcccggga gtaccgccgt 6480
actacccgc ctgtgtcac catccaccga cgcaaagccc aaccgagca cacctcttgc 6540
accaaggtgc cgaccgtggc tttccgctcg cagggttcca gaagaaatcg aacgatccag 6600
cgcggaagg ttcaaaaagc aggggttggg ggggaggagg ttttgggggg tgctgccggg 6660
atacctgata tggctttgtt ttgcgtagtc gaataatitt ccatatagcc tcggcgcgtc 6720
ggactcgaat agttgatgtg ggcgggcaca gttgccccat gaaatccgca acggggggcg 6780
tgctgagcga tcggcaatgg gcggatgcgg tgttgcttcc gcaccggccg ttcgcgacga 6840
acaacctcca acgaggtcag tacgggatga gccgcgacga cgattggca atgcggtacg 6900
tcgagcattc accgcacgcg ttgctcgat ctatcgtcat cgactgcgat cacgttgacg 6960
ccgcgatgcg cgattcgag caaccatccg accatccggc gccgaactgg gtcgcacaat 7020
cgccgtccgg ccgcgcacac atcggatggg ggctcggccc caaccacgtg tgccgcaccg 7080
acagcggccg actgacgcca ctgcgtacg ccaccgcat cgaaaccggc ctcaagatca 7140
gcgtcggcgg cgatttcgcg tatggcgggc aactgaccaa aaaccgatt caccgccatt 7200

gggagacgat ctacggcccg gccaccccggt acacattgcg gcagctggcc accatccaca 7260
caccgccgca gatgccgcgt cggcccgatc gggccgtggg cctgggcccgc aacgtcacca 7320
tgttcgacgc caccggcgga tgggcatacc cgcagtgggtg gcaacaccga aacggaaccg 7380
gccgcgactg ggaccatctc gtcttcgacg actgccacgc cgtcaacacc gagttcacga 7440
caccactgcc gttcacggaa gtacgcgcca ccgcgcaatc catctccaaa tggatctggc 7500
gcaatttcac cgaagaacag taccgagccc gacaagcgca tctcgggtcaa aaaggcggca 7560
aggcaacgac actcgccaaa caagaagccg tccgaaacaa tgcaagaaag tacgacgaac 7620
atacgatgcg agaggcgatt atctgatggg cggagccaaa aatccggtgc gccgaaagat 7680
gacggcagca gcagcagccg aaaaattcgg tgcctccact cgcacaatcc aacgcttggt 7740
tgctgagccg cgtgacgatt acctcggccg tgcgaaagct cgccgtgaca aagctgtcga 7800
gctgcggaag caggggttga agtaccggga aatcgccgaa gcgatggaac tctcgaccgg 7860
gatcgtcggc cgattactgc acgacgcccg caggcacggc gagatttcag cggaggatct 7920
gtcggcgtaa ccaagtcagc gggttgtcgg gttccggccg gcgctcggca ctcggaccgg 7980
ccggcggatg gtgttctgcc tctggcgagc cgtcagctac cgccgaaggc ctgtcatcga 8040
ccggcttcga ctgaagtatg agcaacgtca cagcctgtga ttggatgacg cgctcacgct 8100
cgaccgctac ctgttcagct gccgcccgtt gggcatgagc aacggccaac tctcgttcaa 8160

<210> 52

<211> 8160

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-CH2

<400> 52

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttgggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120

tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccccca tgcacagcat 300
cgcgcccggt gtggagtcca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcgccgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggg 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgcctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca ttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttcgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg ttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatcagag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcg gcccgacgc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac ccggttctca cgctttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa cactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggtaactgc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgtatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgccagtc tgctcgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcatcgtg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttggcg ccctctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgcgg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860

cctaatagcag gagtgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag cttcaaccc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgca cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tctactggctc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccc ttatgattct tctcgcttcc ggcgcatcg ggatgcccgc 2280
gttgaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacct caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaacct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcggt gcgcacgtg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccgg 3120
ccgcggaacc gcgcgcgac ctgcgccgc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600

agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tactccccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcgggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ctttctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgcccga gaacgttttc 4140
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggg attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gactactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcc 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggg aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc ttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccattca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttctg gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct 5340

acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgcg ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
ggcgcggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcacc gcagcgaggg gtcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagtgc agtgatggtg atggtgatgt cctcgagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatatg cgctcccttc tctgacgccg tccacgtgc ctctcacgt 6120
gacgtgaggt gcaagcccgc acgttccgcg tgccacgccg tgagccgccg cgtgccgtcg 6180
gtccctcag cccgggcggc cgtgggagcc cgctcgata tgtacaccg agaagctccc 6240
agcgtcctcc tgggcccgcg tactcgacca ccacgcacgc acaccgcact aacgattcgg 6300
ccggcgctcg attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat 6360
tcggccggcg ctcgattcgg ccgagcagaa gagtgaacaa ccaccgacca cgcttccgct 6420
ctgcgcgccg taccgacct acctcccgca gctcgaagca gctcccggga gtaccgccgt 6480
actacccgc ctgtgtcac catccaccga cgcaaagccc aaccgagca cacctcttgc 6540
accaaggtgc cgaccgtggc tttccgctcg cagggttcca gaagaaatcg aacgatccag 6600
cgccgcaagg ttcaaaaagc aggggttggt ggggaggagg ttttgggggg tgtcgccggg 6660
atacctgata tggctttgtt ttgcgtagtc gaataatitt ccatatagcc tcggcgctc 6720
ggactcgaat agttgatgtg ggcgggcaca gttgccccat gaaatccgca acggggggcg 6780
tgctgagcga tcggcaatgg gcggatgcgg tgttgcttcc gcaccggccg ttcgcgacga 6840
acaacctcca acgaggtcag taccgatga gccgcgacga cgatttggca atgcggtacg 6900
tcgagcattc accgcacgcg ttgctcgat ctatcgtcat cgactcgat cacgttgacg 6960
ccgcgatgcg cgcattcgag caaccatccg accatccggc gccgaactgg gtcgcacaat 7020
cgccgtccgg ccgcgcacac atcggatggt ggctcggccc caaccacgtg tgccgcaccg 7080

acagcgcccg actgacgcca ctgcgctacg cccaccgcat cgaaaccggc ctcaagatca 7140
gcgtcggcgg cgatttcgcg tatggcgggc aactgaccaa aaacccgatt caccgccgatt 7200
gggagacgat ctacggcccg gccaccccggt acacattgcg gcagctggcc accatccaca 7260
caccgccgca gatgccgct cggcccgatc gggccgtggg cctgggcccgc aacgtcacca 7320
tgttcgacgc caccggcgga tgggcatacc cgcagtgggt gcaacaccga aacggaaccg 7380
gccgcgactg ggaccatctc gtcctgcagc actgccacgc cgtcaacacc gagttcacga 7440
caccactgcc gttcaccgaa gtacgcgcca ccgcgcaatc catctccaaa tggatctggc 7500
gcaatttcac cgaagaacag taccgagccc gacaagcgca tctcgggtcaa aaaggcggca 7560
aggcaacgac actcgccaaa caagaagccg tccgaaacaa tgcaagaaag tacgacgaac 7620
atacgatgcg agaggcgatt atctgatggg cggagccaaa aatccgggtgc gccgaaagat 7680
gacggcagca gcagcagccg aaaaattcgg tgcctccact cgcacaatcc aacgcttggt 7740
tgctgagccg cgtgacgatt acctcggccg tgcgaaagct cgccgtgaca aagctgtcga 7800
gctgcggaag caggggttga agtaccggga aatcgccgaa gcgatggaac tctcgaccgg 7860
gatcgtcggc cgattactgc acgacgccc caggcacggc gagatttcag cggaggatct 7920
gtcggcgtaa ccaagtcagc gggttgtcgg gttccggccg gcgctcggca ctcggaccgg 7980
ccggcggatg gtgttctgcc tctggcgag cgctcagctac cgccgaaggc ctgtcatcga 8040
ccggcttcga ctgaagtatg agcaacgtca cagcctgtga ttggatgatc cgctcacgct 8100
cgaccgctac ctgttcagct gccgcccgt gggcatgagc aacggccaac tctcggtcaa 8160

<210> 53

<211> 8189

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector

pTip-LNH1

<400> 53

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccg cgtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccccica tgcacagcat 300
cgcggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctcgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccgt cgcgaggagg ccatcgccctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggttggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atccccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgctttaggc ttgaccccgg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccaactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcacgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcccta 1680

tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgcgg cggcgggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaatagcag gagtgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaaccc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgga cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactggctc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcattggcgg ccgacgcgtt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgcccgc 2280
gttgaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacct caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgta cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcg gcgcgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgtttgta 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcgggt gcgcacgtg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgtgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420

gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tactcccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gtcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg ctcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ctttctgtt tttgtcacc 4020
cagaaacgtt ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cactttttaa gttctgtat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gactactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctgggt tattgtgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc ttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttcac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagcc gtagttaggc caccattca 5160

agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatatgta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgc ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gtcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagttc atcctcgaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag aattcccata 6060
tggtgatggt gatggtggcc catggtatat ctcttctta aagttaaaca aaattatttc 6120
tagacgccgt ccacgtgcc tcctcacgtg acgtgagtg caagcccga cgttccgcgt 6180
gccacgccgt gagccgccgc gtgccgtcgg ctccctcagc ccgggcggcc gtgggagccc 6240
gcctcgatat gtacaccga gaagctcca gcgtcctcct gggccgcgat actcgaccac 6300
cacgcacga caccgacta acgattcggc cggcgctcga ttcggccggc gctcgattcg 6360
gccggcgctc gattcggccg gcgctcgatt cggccggcgc tcgattcggc cgagcagaag 6420
agtgaacaac caccgaccac gcttccgctc tgcgcgccgt acccgacct cctcccgag 6480
ctcgaagcag ctccgggag taccgccgta ctacccgcc tgtgctcacc atccaccgac 6540
gcaaagccca acccgagcac acctcttgca ccaaggtgcc gaccgtggct ttccgctcgc 6600
agggttccag aagaaatcga acgatccagc gcggcaaggt tcaaaaagca ggggttggtg 6660
gggaggagggt tttggggggt gtcgccggga tacctgatat ggctttgttt tgcgtagtcg 6720
aataattttc catatagcct cggcgcgctg gactcgaata gttgatgtgg gcgggcacag 6780
ttgccccatg aaatccgcaa cggggggcgt gctgagcgat cggcaatggg cggatgcggt 6840
gttgcttccg caccggccgt tcgcgacgaa caacctcaa cgaggtcagt accggatgag 6900

ccgcgacgac gcattggcaa tgcggtacgt cgagcattca ccgcacgcgt tgctcggatc 6960
tatcgtcatc gactgcgac acgttgacgc cgcgatgcgc gcattcgagc aaccatccga 7020
ccatccggcg ccgaactggg tcgcacaatc gccgtccggc cgcgcacaca tcggatgggtg 7080
gctcggcccc aaccacgtgt gccgcaccga cagcgcccga ctgacgccac tgcgctacgc 7140
ccaccgcac gaaaccggcc tcaagatcag cgtcggcggc gatttcgcgt atggcgggca 7200
actgacaaa aaccgattc acccgattg ggagacgac tacggcccgg ccaccccgta 7260
cacattgcgg cagctggcca ccatccacac acccggcag atgccgcgtc ggcccgatcg 7320
ggccgtgggc ctgggcccga acgtcacat gttcgacgcc acccgcgat gggcataccc 7380
gcagtgggtg caacaccga acggaaccgg ccgcgactgg gaccatctcg tcctgcagca 7440
ctgccacgcc gtcaacaccg agttcacgac accactgccg ttcaccgaag tacgcgccac 7500
cgcgcaatcc atctccaaat ggatctggcg caatttcacc gaagaacagt accgagcccg 7560
acaagcgcat ctcggtcaaa aaggcggcaa ggcaacgaca ctcgccaaac aagaagccgt 7620
ccgaaacaat gcaagaaagt acgacgaaca tacgatgcga gaggcgatta tctgatgggc 7680
ggagccaaaa atccggtgcg ccgaaagatg acggcagcag cagcagccga aaaattcgg 7740
gcctccactc gcacaatcca acgcttggtt gctgagccgc gtgacgatta cctcggccgt 7800
gcgaaagctc gccgtgacaa agctgtcgag ctgcggaagc aggggttgaa gtaccgggaa 7860
atcgccgaag cgatggaaact ctcgaccggg atcgtcggcc gattactgca cgacggccgc 7920
aggcacggcg agatttcagc ggaggatctg tcggcgtaac caagtcagcg ggttgctcggg 7980
ttccggccgg cgctcggcac tcggaccggc cggcggatgg tgttctgcct ctggcgcagc 8040
gtcagctacc gccgaaggcc tgtcatcgac cggcttcgac tgaagtatga gcaacgtcac 8100
agcctgtgat tggatgatcc gctcacgctc gaccgctacc tggtcagctg ccgcccgctg 8160
ggcatgagca acggccaact ctcgttcaa 8189

<210> 54

<211> 8183

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector

pTip-LNH2

<400> 54

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgcccggt gtggagtca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttcttggtg ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcacgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacggggg 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctcgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaaggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgccit 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcgggtggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgggcc aaccgataag cgcctctgtt ctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgctttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaacct ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggtatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cgggtactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440

cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgctc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcatcgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgctg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgccg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaatacag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaacc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgca cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tctactggtcc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgtt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgcccgc 2280
gttgacggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacat caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggtt cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaacct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg ccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcggt gcgcacgtg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgctcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgacccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180

aactgcagaa gatggcgggc gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctcacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggt ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tactcccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatc aaatatgtat ccgtcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttgggt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctgggt tattgtgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggttaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc ttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920

aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag acccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatatgta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggctcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggccggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccctttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtcctcgc accggcacc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagttc agtgatggtg atggtgatgt cctcgagatc taagcttga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatggt atatctcctt cttaaagtta aacaaaatta tttctagacg 6120
ccgtccacgc tgctcctca cgtgacgtga ggtgcaagcc cggacgttcc gcgtgccacg 6180
ccgtgagccg ccgcgtgccg tcggctcct cagcccgggc ggccgtggga gcccgcctcg 6240
atatgtacac ccgagaagct ccagcgtcc tcctgggccc cgatactga ccaccacgca 6300
cgcacaccgc actaacgatt cggccggcgc tcgattcggc cggcgctcga ttcggccggc 6360
gctcgattcg gccggcgctc gattcggccg gcgctcgatt cggccgagca gaagagtga 6420
caaccaccga ccacgttcc gctctgcgcg ccgtaccga cctacctcc gcagctcgaa 6480
gcagctcccg ggagtaccgc cgtactcacc cgcctgtgct caccatccac cgacgcaaag 6540
ccaaccga gcacacctt tgaccaagg tgccgaccgt ggctttccgc tcgaggggtt 6600
ccagaagaaa tcgaacgac cagcgcggca aggttcaaaa agcaggggtt ggtggggagg 6660

aggttttggg ggggtgtgcc gggataacctg atatggcttt gttttgctga gtcgaataat 6720
tttccatata gcctcggcgc gtcggactcg aatagttgat gtgggcgggc acagttgccc 6780
catgaaatcc gcaacggggg gcgtgctgag cgatcggcaa tgggcggatg cgggtgttgc 6840
tccgcaccgg ccgttcgcga cgaacaacct ccaacgaggt cagtaccgga tgagccgcga 6900
cgacgcattg gcaatgcggt acgtcgagca ttcaccgcac gcgttgctcg gatctatcgt 6960
catcgactgc gatcacgttg acgccgcgat gcgcgcattc gagcaaccat ccgaccatcc 7020
ggcgccgaac tgggtcgcac aatcgccgtc cggccgcgca cacatcggat ggtggctcgg 7080
ccccaaccac gtgtgccga cgcacagcgc ccgactgacg ccactgcgt acgcccaccg 7140
catcgaaacc ggcctcaaga tcagcgtcgg cggcgatttc gcgtatggcg ggcaactgac 7200
caaaaaccg attcaccg attgggagac gatctacggc ccggccaccc cgtacacatt 7260
gcggcagctg gccaccatcc acacaccg gcagatgccg cgtcggcccg atcgggcccgt 7320
gggcctgggc cgcaacgtca ccatgttcga cgccaccg cgatgggcat accgcagtg 7380
gtggcaacac cgaaacggaa ccggccgcga ctgggaccat ctgctcctgc agcactgcca 7440
cgccgtcaac accgagttca cgacaccact gccgttcacc gaagtacgcg ccaccgcga 7500
atccatctcc aaatggatct ggcgcaattt caccgaagaa cagtaccgag cccgacaagc 7560
gcatctcgtt caaaaaggcg gcaaggcaac gacactgcc aaacaagaag ccgtccgaaa 7620
caatgcaaga agtacgacg aacatacgat gcgagaggcg attatctgat gggcggagcc 7680
aaaaatccgg tgcgccgaaa gatgacggca gcagcagcag ccgaaaaatt cgggtgcctcc 7740
actcgcaaa tccaacgctt gtttgctgag ccgcgtgacg attacctcgg ccgtgcgaaa 7800
gctcgccgtg acaaagctgt cgagctgcgg aagcaggggt tgaagtaccg ggaaatcgcc 7860
gaagcgatgg aactctcgac cgggatcgtc ggccgattac tgcacgacgc ccgcaggcac 7920
ggcgagattt cagcggagga tctgtcggcg taaccaagtc agcgggttgt cgggttccgg 7980
ccggcgctcg gcaactcggac cggccggcgg atggtgttct gcctctggcg cagcgtcagc 8040
taccgccgaa ggcctgtcat cgaccggctt cgactgaagt atgagcaacg tcacagcctg 8100
tgattggatg atccgctcac gctcgaccgc tacctgttca gctgccgccc gctgggcatg 8160
agcaacggcc aactctcgtt caa 8183

<211> 8123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector

pTip-LCH1

<400> 55

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccg cgtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgcccggt gtggagttca tcgaggctta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 480
gaagatcgtc ggggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctcgcgctcg gagcgtcggg 540
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgagc cggcgtctcc aaagggccag 600
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 660
cattcgggac agcggtatgc agtcatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 720
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaag aggggtgggccc 780
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 840
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 900
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcgagcgc tcggttcctc gacctcgatt 960
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1020
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1080
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac ccggttctca cgcttttaggc ttgacccccg 1140
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1200

agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccactccaca ggaggaccgt 1260
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcaccc tggatgctgt 1320
aggcataggc ttggttatgc cgggtactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1380
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1440
cgcacccgtt ctcgagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1500
gctacttggg gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgttgattct 1560
ctacgccgga cgcacgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgccta 1620
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1680
tttcggcggtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1740
gcatgcacca ttccttgcg cgcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1800
cctaatacag gattcgata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ctttaaccc 1860
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1920
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 1980
ccgctttcgc tggagcgga cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2040
cgccctcgt caagccttcg tcaactggcc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2100
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2160
aggctggatg gccttccca ttatgattct tctcgcttc ggcggcatcg ggatgcccgc 2220
gttgcaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacat caggacagc ttcaaggatc 2280
gctcgcggt cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2340
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgcg ccctatacct 2400
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2460
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2520
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcgc gtccgccatc 2580
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2640
atcgtgctcc tgtcgttag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2700
gaatcatctg cgtttctgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtggtgtga 2760
atcacacccc accggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2820
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2880
gagtgcggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 2940

gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3000
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgctcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgacccgg 3060
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3120
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3180
acctcacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3240
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3300
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3360
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3420
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3480
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3540
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3600
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tctctccgg 3660
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcgggtc ccacgtccgc cgcctccgtc 3720
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3780
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3840
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3900
atttccgtgt cgcccttatt ccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 3960
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4020
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4080
caatgatgag cactttttaa gtctgtctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4140
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gactactcac 4200
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4260
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4320
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttggggaac 4380
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4440
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4500
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4560
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4620
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4680

aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4740
attggttaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4800
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4860
aacgtgagtt ttcgtttcac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4920
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag 4980
cgggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5040
gcagagcgca gataccaaat actgtttctt tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5100
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgtttacca gtggctgctg 5160
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatatgta ccggataagg 5220
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5280
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5340
gaaaggcgga caggatatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5400
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5460
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggccggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5520
cggccttttt acggttcttg gccttttgct ggcccttttg tcacatgttc tttcctgcgt 5580
tatccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5640
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5700
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5760
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcggtagg tcaccaaccg gggtagaacg 5820
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5880
cgcggtgttc agtccctcgc accggcacc gcagcgagg gctcacgggt gccggtgggt 5940
cgactagttc agtgatggtg atggtgatgt cctcgagatc taagcttgga tccgcggccg 6000
ctacgtagaa ttcccatggt atatctcctt cttaaagtta aacaaaatta tttctagacg 6060
ccgtccacgc tgcctcctca cgtgacgtga ggtgcaagcc cggacgttcc gcgtgccacg 6120
ccgtgagccg ccgctgccc tgggtccct cagcccgggc ggccgtggga gccgcctcg 6180
atatgtacac ccgagaagct cccagcgtcc tcctgggccc cgatactcga ccaccacgca 6240
cgcacaccgc actaacgatt cggccggcgc tcgattcggc cggcgctcga ttcggccggc 6300
gctcgattcg gccggcgctc gattcggccg gcgctcgatt cggccgagca gaagagtga 6360
caaccaccga ccacgttcc gctctgcgcg ccgtaccga cctacctcc gcagctcga 6420

gcagctcccg ggagtaccgc cgtactcacc cgcctgtgct caccatccac cgacgcaaag 6480
cccaaccga gcacacctct tgcaccaagg tgccgaccgt ggctttccgc tgcagggtt 6540
ccagaagaaa tcgaacgata cagcgcggca aggttcaaaa agcaggggtt ggtggggagg 6600
aggttttggg ggggtgtgcc gggatactg atatggcttt gttttgcgta gtcgaataat 6660
tttccatata gcctcggcgc gtcggactcg aatagttgat gtgggcgggc acagttgccc 6720
catgaaatcc gcaacggggg gcgtgctgag cgatcgga tgggcggatg cgggtgttgc 6780
tccgcaccgg ccgttcgcga cgaacaacct ccaacgaggt cagtaccgga tgagccgcga 6840
cgacgcattg gcaatgcggt acgtcgagca ttcaccgcac gcgttgctcg gatctatcgt 6900
catcgactgc gatcacgttg acgccgcgat gcgcgcattc gagcaacat ccgaccatcc 6960
ggcgccgaac tgggtcgcac aatcgccgtc cggccgcgca cacatcggat ggtggctcgg 7020
ccccaaccac gtgtgccga ccgacagcgc ccgactgacg ccaactgcgt acgcccaccg 7080
catcgaaacc ggcctcaaga tcagcgtcgg cggcgatttc gcgtatggcg ggcaactgac 7140
caaaaacccg attaccccg attgggagac gatctacggc ccggccacc cgtacacatt 7200
gcggcagctg gccaccatcc acacaccccg gcagatgccg cgtcggcccg atcgggccgt 7260
gggcctgggc cgcaacgtca ccatgttcga cgccaccgg cgatgggcat acccgagtg 7320
gtggcaacac cgaaacggaa ccggccgcga ctgggacat ctctctctgc agcactgcca 7380
cgccgtcaac accgagttca cgacaccact gccgttcacc gaagtacgcg ccaccgcgca 7440
atccatctcc aaatggatct ggcgcaattt caccgaagaa cagtaccgag cccgacaagc 7500
gcatctcgtt caaaaaggcg gcaaggcaac gacactcgcc aaacaagaag ccgtccgaaa 7560
caatgcaaga aagtacgacg aacatacgat gcgagaggcg attatctgat gggcggagcc 7620
aaaaatccgg tgcgccgaaa gatgacggca gcagcagcag ccgaaaaatt cgggtgcctcc 7680
actcgcaaa tccaacgctt gtttctgag ccgcgtgacg attacctcgg ccgtgcgaaa 7740
gctcgccgtg acaaagctgt cgagctgcgg aagcaggggt tgaagtaccg ggaaatcgcc 7800
gaagcgatgg aactctcgac cgggatcgtc ggccgattac tgcacgacgc ccgcaggcac 7860
ggcgagattt cagcggagga tctgtcggcg taaccaagtc agcgggttgt cgggttccgg 7920
ccggcgctcg gcaactcgac cggccggcgg atgggtgttct gcctctggcg cagcgtcagc 7980
taccgccgaa ggcctgtcat cgaccggctt cgactgaagt atgagcaacg tcacagcctg 8040
tgattggatg atccgctcac gctcgaccgc tacctgttca gctgccgcc gctgggcatg 8100
agcaacggcc aactctcgtt caa 8123

<210> 56

<211> 8184

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector

pTip-LCH2

<400> 56

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgctg cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccg cgtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgggccggg gtggagttca tcgaggctta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctcgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggtggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020

cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgtttctca cgcttttaggc ttgaccccgg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc cttgatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcgagacac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgcctcgcttc 1560
gctacttggg gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcacgtgg cggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcccta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgcgg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaattgcag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag cttcaaccc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgca cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactggtcc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgtt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttc ggcggcatcg ggatgcccgc 2280
gttgaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacat caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggt cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctcga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcga aaccaacct tggcagaaca tatccatcgc gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgcgttag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760

gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acagggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcagggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccggg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcaccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcggcgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcgggt ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tctactcccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcgtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttcgtgt cgcccttatt ccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gactactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttggggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaagcagc agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500

caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctgggt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acgggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccgataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccgggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgtt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcacc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagttc agtgatggtg atggtgatgt cctcgagatc taagcttga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatatg tatactcct tcttaaagtt aaacaaaatt atttctagac 6120
gccgtccacg ctgcctcctc acgtgacgtg aggtgcaagc ccggacgttc cgcgtgccac 6180
gccgtgagcc gccgcgtgcc gtcggctccc tcagcccggg cggccgtggg agcccgcctc 6240

gatatgtaca cccgagaagc tcccagcgtc ctcttgggcc gcgatactcg accaccacgc 6300
acgcacaccg cactaacgat tcggccggcg ctcgattcgg ccggcgctcg attcggccgg 6360
cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat tcggccgagc agaagagtga 6420
acaaccaccg accacgttc cgctctgcgc gccgtaccg acctacctcc cgcagctcga 6480
agcagctccc gggagtaccg ccgtactcac ccgcctgtgc tcaccatcca ccgacgcaa 6540
gcccacccg agcacacctc ttgcaccaag gtgccgaccg tggctttccg ctgcaggggt 6600
tccagaagaa atcgaacgat ccagcgcggc aaggttcaaa aagcaggggt tgggtggggag 6660
gaggtttttg ggggtgtcgc cgggatacct gatatggctt tgttttgcgt agtcgaataa 6720
ttttccatat agcctcggcg cgtcggactc gaatagttga tgtgggcggg cacagttgcc 6780
ccatgaaatc cgcaacgggg ggcgtgctga gcgatcggca atgggcggat gcggtgttgc 6840
ttccgcaccg gccgttcgcg acgaacaacc tccaacgagg tcagtaccgg atgagccgcg 6900
acgacgcatt ggcaatgcgg tacgtcgagc attcaccgca cgcgttgctc ggatctatcg 6960
tcacgactg cgatcacgtt gacgccgga tgcgcgcatc cgagcaacca tccgaccatc 7020
cggcgccgaa ctgggtcgca caatcgccgt ccggccgcgc acacatcgga tgggtggctcg 7080
gccccacca cgtgtgccgc accgacagcg cccgactgac gccactgcgc tacgcccacc 7140
gcatcgaaac cggcctcaag atcagcgtcg gcggcgattt cgcgtatggc gggcaactga 7200
ccaaaaacc gattcacccc gattgggaga cgatctacgg cccggccacc ccgtacacat 7260
tgccgcagct ggccaccatc cacacacccc ggcagatgcc gcgtcggccc gatcgggccc 7320
tgggcctggg ccgcaacgtc accatgttcg acgccaccg gcgatgggca taccgcagt 7380
ggtggcaaca ccgaaacgga accggccgcg actgggacca tctcgtcctg cagcactgcc 7440
acgccgtcaa caccgagttc acgacaccac tgccgttcac cgaagtacgc gccaccgcgc 7500
aatccatctc caaatggatc tggcgcaatt tcaccgaaga acagtaccga gcccgacaag 7560
cgcatctcgg tcaaaaaggc ggcaaggcaa cgacactcgc caaacaagaa gccgtccgaa 7620
acaatgcaag aaagtacgac gaacatacga tgcgagaggc gattatctga tgggcggagc 7680
caaaaatccg gtgcgccgaa agatgacggc agcagcagca gccgaaaaat tcggtgcctc 7740
cactcgcaca atccaacgtt tgtttgctga gccgcgtgac gattacctcg gccgtgcgaa 7800
agctcgcctg gacaaagctg tcgagctgcg gaagcagggg ttgaagtacc gggaaatcgc 7860
cgaagcgatg gaactctcga ccgggatcgt cggccgatta ctgcacgacg cccgcaggca 7920
cggcgagatt tcagcggagg atctgtcggc gtaaccaagt cagcgggttg tcgggttccg 7980

gccggcgctc ggcactcgga ccggccggcg gatggtgttc tgcctctggc gcagcgtcag 8040
 ctaccgccga aggcctgtca tcgaccggct tcgactgaag tatgagcaac gtcacagcct 8100
 gtgattggat gatccgtca cgctcgaccg ctacctgttc agctgccgcc cgctgggcat 8160
 gagcaacggc caactctcgt tcaa 8184

<210> 57

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN389

<400> 57

gttgtacaag catggggact cgccgc

26

<210> 58

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN390

<400> 58

gtagatctcc tccgactgca tcaacggcg

29

<210> 59

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN391

<400> 59

accgttaacc atcagtactt ggcgtggtg

29

<210> 60

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN321

<400> 60

gaagctgacc aagttctc

18

<210> 61

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN335

<400> 61

gcccgaggca catcggaatt catg

24

<210> 62

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN336

<400> 62

accgacactg acgccgatga acga

24

<210> 63

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN349

<400> 63

cagcatgaac gtgatgagga atgtcagaag

30

<210> 64

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN351

<400> 64

ttcgaggtct tgctggtcac acgcatcgtg

30

<210> 65

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN361

<400> 65

aagagctctc tagacgcatc cgaaacctcc accc

34

<210> 66

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN362

<400> 66

acaacatgaa ctcggatgtg c

21

<210> 67

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN363

<400> 67

ccggactcat accggacatg g

21

<210> 68

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN364

<400> 68

aaactagtca tggtcgctgt agtggaactc ac

32

<210> 69

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN368

<400> 69

aacgttgtct ttatgttgga tc

22

<210> 70

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN373

<400> 70

aatgtacaag ttaacgaccg cgcgggtccc ggacg

35

<210> 71

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer MCS-1a

<400> 71

catgggccac catcaccatc accatatggg aattctacgt agcggccgcg gatccaagct 60
tagatctctc gagcatcacc atcaccatca ctgaa 95

<210> 72

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer MCS-1b

<400> 72

ctagttcagt gatggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 60
cgtagaattc ccatatggtg atggtgatgg tggcc 95

<210> 73

<211> 98

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer MCS-2a

<400> 73

tatgggcat caccatcacc atcacgcat gggaattcta cgtacgggcc gcggatccaa 60
gcttagatct ctcgagcatc accatcacca tctactgaa 98

<210> 74

<211> 100

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer MCS-2b

<400> 74

ctagttcagt gatggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 60
cgtagaattc ccatggcgtg atggtgatgg tgatggccca 100

<210> 75

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN217

<400> 75

tgacgccgtc cattatacct cctcacgtg

29

<210> 76

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN218

<400> 76

gagaagggag cggccatggc

20

<210> 77

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN395

<400> 77

tttgtaaact agagtaacgg gctactccg

29

<210> 78

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN396

<400> 78

aaggtacctc aacgacagga gcacgatc

28

<210> 79

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN397

<400> 79

actgttaacg catccgaaac ctccacccca ctc

33

<210> 80

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN398

<400> 80

ttggtacctc gctgtagtgg aactcaccga gcac

34

<210> 81

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN147

<400> 81

cgtgtacata tcgaggcggg ctccca

26

<210> 82

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN376

<400> 82

tttctagacg ccgtccatta tacctcctca cgtg

34

<210> 83

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN388

<400> 83

aaagttaacg agagttggcc gttgctc

27

<210> 84

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN120

<400> 84

gctgtacacc cgagaagctc ccagcg

26

<210> 85

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN160

<400> 85

aacatatgta tatctccttc ttaaagtaa ac

32

<210> 86

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN337

<400> 86

aaccatggct agcaaaggag aagaact

27

<210> 87

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN338

<400> 87

aagtgttggc caaggaacag gtag

24

<210> 88

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN339

<400> 88

gtcactactt tctcttatgg

20

<210> 89

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN340

<400> 89

ttagatcttt agtgatggtg atggtgatgt ttgtagagct catccatgcc atgtg

55

<210> 90

<211> 5987

<212> DNA

<213> *Rhodococcus erythropolis*

<220>

<223> endogenous plasmid pRE8424

<400> 90

gaattcgcgt tgaagcccgg cctctcgtag ctccattgcg acagtcgtgg agtcgtgcgc 60
gttttgaatg gtctgccagg agtgcgacag atccacagat gcctgcttga tgacctgcat 120
ctttcgttcg gtttctttgc gttgaatcat cgcgcgaaacc tctttctcgt ccatacggac 180
agcttattga gtgatcaacc aaaaaagtg tgcagtcggt gacggtttgt gcagcaactg 240
gacactacgc gatattatgt gtacggtttg aagtgtagat gaacaggtgt tgctgaatat 300
ggacacttaa gtcataagct gtatcggact cgatcgaagg aactcgcatt aatgttcagc 360
tcggaacgtc cctccccgtc gcaactaccg ctgatcagtt cccggtgttc gtggccggta 420
tggaacgacc gatcaagccg gtgcaggaca agctcactcc cgatgggctg gtgaagtatt 480
cgactggtgc actgctccga gttgcacgca aagatggaac tgttgcgacg gataagacag 540
catccgtgca cgtcatcaac ccgccgaatg agccgttcag cttcggcacg atctaccgag 600
cagaaggcct tgtctgggtg cagccctaca tgacgggaat ggatcgtctc gcactgtcca 660
tcacggtcga gaacctgggt ccaatgcctg cggcggccgt ctccgcacct gctcgtaaga 720
gcgcggacgc atgacaaagc tggtttcacg aatcgcgata ccggttggtg ccttgctagt 780
cggactgatt gttggtctga atattgttg cacacaagag attaagcttt ccagcggaat 840
gcaagagcgt cgggactcat gggctgaacg aacggtgacc tgggtgcagat ctctcttcc 900
gacaggttct gttccatctg tcagtgcatt cagagagata ccgggatatg tccgagttag 960
tccggaattg agcgccgatg ggatccagtg gactaaccac gatggacagg tcatcacgtc 1020
gccgtactcg aagaccagta cctgcggtga tgttccagtt cccgaagggt ggcgcgacgt 1080
ctatttgacc gtaaacagcc ctgtcccggc ctacaacgga acggaggctg agactgtccc 1140
agaaacattg acgagcgagc gagtgcaaac caatctccag cttggaacct ccggatgcgc 1200
tcttgtgcca gtcgagtcgt ggttgtggaa cgtggatgag caggtcgagg tagatagtcc 1260

gaatgtcgtt gtggagtggc cccgatgagc aattacgaag ccgttcggcg cggtgaccag 1320
gtacgaaggc gtacaacctg gcaaatacatg cgaggaaagc tcaaggcaaa aattgccgat 1380
taccgattc tgtcctcgac gtttctgttg cttctcgtgc tgtacatctt cgacgtgag 1440
atgiggctct tggccagtgt gctgctgggtg tgcgttggtg caatgggtcta cctgagagac 1500
cgaacgaagg ctcggcggcg caaacgtcgt acagctcgat ggtggcgagg aactccggaa 1560
gttgacaggtg ctgcggccaa tctcggtctg atcaattcct ctggacagcc tcctctcatt 1620
cggagttata aattttcggg cgacggattg actcgatcag tcgctttcga ccttccgaca 1680
ggcatcactg gggaagacat gacatcgaaa acggtcaaaa tagctgatgc tttcgggtgct 1740
ctacgtgccg gtttcaccaa agtagagccg cgcaggggtg agctacttct gatcgacgca 1800
gacactatct ctcaagcacg agatgcagca tggctcagtg acgtcgagga ctcatcggcc 1860
ggcacattga aggaagaggc cggcggcata cttggggaca atcggccttg gtgggagcaa 1920
gaaaaggatc ttccgttcga caaaagcacg gacgcctgat ggatcaaaca gacacgatcc 1980
cgattgcgat tggatggaac gaactagccc aacctgtcct ggtcgatata gccaaagatg 2040
ctgctcactg gctcattcaa ggcaaaaccc gttccggaaa atctcaatgc acctacaacc 2100
tgctcgaca ggctggatcg aatcccgctg tgcgtgtcgt cggagtcgat cccacttccg 2160
tcttactagc cccattcgtc caccgaagac ccgctgaacc gaacatcgag ctcgactga 2220
acgattttga caaagtcctc cgagtcctcc agttcgtcaa agcagaatcc gaccgacgaa 2280
ttgagtgttt ctgggatcga cgcatagaca aaatttcttt gttctcgcca gcactacctc 2340
tcattcctgct tgtactggaa gaatttcccg gaatcatcga gggcgcacag gatttcgatg 2400
caaccaacgg tctgaaacca gcagatagat acgcaccccg catcacatcg cttgttcgac 2460
agattgctgc tcagtcggcc aaagcaggca tcagaatgtt gctcttggct caacgtgcgg 2520
aagcttccat cgtgggcgga aacgctcgct cgaatttcgc ggtgaaaatg actctccgcg 2580
tagacgaacc tgaatctgtc aaaatgctgc accccaacgc aacacctgaa gagtgcgcac 2640
tggtcgaagg attcgttcct ggacaaggct tcttcgacca acccgacta cggcgccaaa 2700
tgatccgaac ggttcgcgta ggtgagtact cgacctacgc gagttacgtc gaaaacgcag 2760
acctcgcgta tgaagccgca ctgaacatcg accgagcaca acgaatgaca atcgctcgg 2820
aatacccaca tcttggcgac ataggctgac aaccgaacac acaggaggac ataccttgat 2880
cggctacccg acagacgcaa tcccggtaaa cacctatatt cgacagcaat ttgagaaggt 2940
tgcacatgag gcaggagaaa aacttgcttc acgccgaaac ctgcccacgg aacgagtcgt 3000

aacgactgca ctccggatca aatcaggctg gccgaatgat catctcgtaa taactgaaat 3060
actcagggcc agagtaggtt tggaaggctca agctgtcggt gacgaacttc gcggcatgca 3120
gatcaccgat gacgaccttg gtgcactagt cgggccacga tgggtcagtt cgatgaccgt 3180
gttcgcaatg tctgagctgc ttctaggcga tgaactcgga aagctcaacg atttacgcgg 3240
tgacgattgg aaacgtgcta gtgactcagc tgctgaagtt ggacgatcac tgggccttaa 3300
atacgacatt tccgacacgc agggagccga acgagattgg tgcgctgctc gaggggcggc 3360
atgggctgtc gcaatgcatg aacacctcga gggacgcgat ttcgaaactc tgactgcacc 3420
gtggatcagt cttgtccgac cgaagtctgt tcaactcttc atggacaatg ctgatcgacc 3480
gtcatttggt gcccgaggtc acgacgagct atgcagccat tctggaggtc atgcaattct 3540
gagtgcagca gatcagaggg ttgatgcgtg aagcacgaag ctacgggtatt catccttctg 3600
ctagctgtcg gcatttacga tcatcgcggg cctgatctgt ggggtggaca tgatgtctac 3660
ggttggattt acgctgggtg acgcgctgaa tcgtctgaaa ttcttgctgc gatgtgctgc 3720
tattacaccc ccgactacgc ccgtgaagcc ggattcgaca ttgaagcact ggggtgaatac 3780
cggggctctgt tcgatgcact ggtgaagaca agcagaaccc cggaagagaa ggctggcggt 3840
gtcgaagcat ggggactcgc cgcggactag cggcttcccg acacgccgta ctgaccagca 3900
gatcagcgat aaacgctggt tctgctgggt aagtggataa aaaccaaata atcgatgaac 3960
ctcgaagtgg agtatccgag ctgaactagc tggatttact ccgaaaatac gagcggcgac 4020
gaaggggtgtt ggaccaccct gccgccgctt tcgaggctcc tacttgacta ggaccccgct 4080
cgttatgacc agcgtaagtg ctgaacacct ttccggcaaa gaccggcccc ctgtcctcgt 4140
gtcgtccgat aagcgcggca tccggcacga acttcgacct aaacttcaac aaatcaccac 4200
gtcagaaact tttaatgcgt gcggccggcc gatttccggc gtgaacggtg tgaccatcgt 4260
caacgggtccc aaaggttccg gatttggagg ctttcgctcc tgcggaaagg gctggatctg 4320
cccctgctgt gcgggaaaag tcggcgaca tcgagcagac gaaatttctc aagtgttgc 4380
tcatcaactc gggactggat ctgttgcat ggtgaccatg accatgcgcc ataccgctgg 4440
gcagcgtttg catgatttgt ggactggact ttccgcagcc tggaaagctg cgaccaatgg 4500
ccgccgatgg cgtaccgaac gtgaaatgta cggctgcgac ggatacgtac gagctgttga 4560
aatcactcac ggaaaaaacg gttggcacgt tcacgtccac gctctactca tgttcagcgg 4620
tgacgtgagt gagaacatcc tcgaatcctt ctcggatgcg atgttcgatc ggtggacctc 4680
caaactcgtg tctctgggat ttgtgcgcc actacgtaat tcaggtggac tcgacgtaag 4740

aaagattggt ggagaagctg accaagttct cgctgcatac ctgacgaaaa ttgcatccgg 4800
ggtcggcatg gaagtcggca gtggcgacgg aaaaagtggc cggcacggca accgtgcacc 4860
ttgggaaatc gccgttgatg cagtcggagg ggatccacaa gcgttggaac tctggcgcca 4920
gtttgagttc ggttcgatgg gacgccgagc aatcgcatgg tctcgtggac tgcgcgcccc 4980
agctgggtctt ggcgtagaac tcacggatgc tcagattgtc gaacaggaag aatctgcccc 5040
ggtcatgggt gcgatcattc cggctcggtc ctggatgatg attcggaact gtgcgcctta 5100
cgttttcgga gagatccttg gactcgtgga agcggggcgcg acctgggaaa accttcgtga 5160
ccacttgcac tatcgattgc ctgcagcgga tgtgcggcct ccgataatat cgattcgtaa 5220
gtgaaatgtc ttggtgtgca acaactttca ctcgtatgaa ccacacttga gggcatcccc 5280
ccgatacttg ccgctttgaa gctgggtgtc tctctgtcag ggctgcgata gcaccgcgta 5340
gcggtctggc cttgacagag agacggcctg tttcatgggt ggtctcgggg ggctgaccgg 5400
gcagatagaa aaaggccggc cgatttggct gccgactatt tttgcaggta aacctatctc 5460
atgagcatca atgaacgtcc cgttgggtatc gcagcgaatg cagcttcggt agacgtcgat 5520
ggcgttgtga tgggtgtgta tctctcgctt tatgggcaag aaatcacgct agatcgagat 5580
gatgcgttcc tactcctcga tcgacttcag gacgcgttgc gacctcaagc caactaagaa 5640
ccctccagat ggtctaaacg aggcgcaaac tcgctcctgg gcctgcgggc ggagcaccga 5700
agcgcgagcg aagcggagcg cgtaggtggg ggagcctgcg ggcagcggcg gcggagccgc 5760
cgccttggta ataggtgatc atcggggcca tagcaggta gaggatgttt ttacgatgac 5820
tcattgctcac cagccaagt actgatgtc gacggtgaaa catctgcaac ggtggcaacg 5880
gttcggctgc tgacgtcaag ctcgtcaacg agaaaacgag aaatggattt gcgcagctca 5940
gaggcagttc ccactactga tgtgatgtct gccagagcct gtagcca 5987

<210> 91

<211> 8207

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-QT1

<400> 91

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg ttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgcttttaggc ttgaccccgg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa cactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggtatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cgggtactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcgagacac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1560

gctacttggga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcacgtgg cggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgcgg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaattgcag gagtcgata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaacc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgga cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccitcg tactggtcc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgccgcg 2280
gttgaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacct caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgta cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgcg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctcga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accggggggg gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcgggt gcgcacgtg caccactacg acgacatcg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgtttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgacccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300

aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tctctcccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgcac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctgggt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggg aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttcac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgtaccag 5040

cggtgggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatatgta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcgga gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcttg gccttttctg ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagtgc agtgatgggt atgggtgatgc tcgagagatc taagcttggg tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatatg gtgatgggtg tggtagccca tgggtatatct ctttcttaa 6120
gttaaacaaa attatttcta gacgccgtcc acgtgcctc ctcacgtgac gtgagggtgca 6180
agcccgagc ttccgcgtgc cacgccgtga gccgccgcgt gccgtcggct ccctcagccc 6240
gggcggccgt gggagcccg ctcgatatgt acaccgaga agctcccagc gtcctcctgg 6300
gccgcgatac tcgaccacca cgcacgcaca ccgactaac gattcggccg gcgctcgatt 6360
cggccggcgc tcgattcggc cggcgctcga ttcggccggc gctcgattcg gccggcgctc 6420
gattcggccg agcagaagag tgaacaacca ccgaccacgc ttccgctctg cgcgccgtac 6480
ccgacctacc tccgcagct cgaagcagct cccgggagta ccgccgtact caccgcctg 6540
tgctcaccat ccaccgacgc aaagcccaac ccgagcacac ctcttgacc aaggtgccga 6600
ccgtggcttt ccgctcgcag ggttccagaa gaaatcgaa gatccagcgc ggcaagggtc 6660
aaaaagcagg ggttggtggg gaggagggtt tgggggggtg cgcggggata cctgatatgg 6720
ctttgttttg cgtagtcgaa taattttcca tatagcctcg gcgcgtcgga ctcgaatagt 6780

tgatgtgggc gggcacagtt gccccatgaa atccgcaacg gggggcgtgc tgagcgatcg 6840
gcaatgggcg gatgcggtgt tgcttccgca ccggccgttc gcgacgaaca acctccaacg 6900
aggtcagtac cggatgagcc gcgacgacgc attggcaatg cggtagctcg agcattcacc 6960
gcacgcgttg ctcgatcta tcgtcatcga ctgcgatcac gttgacgccg cgatgcgcgc 7020
attcgagcaa ccatccgacc atccggcgcc gaactgggtc gcacaatcgc cgtccggccg 7080
cgcacacatc ggatggtggc tcggcccaa ccacgtgtgc cgcaccgaca gcgcccact 7140
gacgccactg cgctacgcc accgcatcga aaccggcctc aagatcagcg tcggcggcga 7200
tttcgcgtat ggcgggcaac tgacaaaaa cccgattcac cccgattggg agacgatcta 7260
cggcccggcc accccgtaca cattgcggca gctggccacc atccacacac cccggcagat 7320
gccgcgtcgg ccgatcggg ccgtgggcct gggccgcaac gtcacatgt tcgacgccac 7380
ccggcgatgg gcataccgc agtggtggca acaccgaaac ggaaccggcc gcgactggga 7440
ccatctcgtc ctgcagcact gccacgccgt caacaccgag ttcacgacac cactgccgtt 7500
caccgaagta cgcgccaccg cgcaatccat ctccaaatgg atctggcgca atttcaccga 7560
agaacagtac cgagcccgac aagcgcattc cggtaaaaaa ggcggcaagg caacgacact 7620
cgccaaacaa gaagccgtcc gaaacaatgc aagaaagtac gacgaacata cgatgcgaga 7680
ggcgattatc tgatgggcgg agccaaaaat ccggtgcgcc gaaagatgac ggcagcagca 7740
gcagccgaaa aattcgggtc ctccactcgc acaatccaac gcttgtttgc tgagccgcgt 7800
gacgattacc tcggccgtgc gaaagctcgc cgtgacaaag ctgtcgagct gcggaagcag 7860
gggttgaagt accgggaaat cgccgaagcg atggaactct cgaccgggat cgtcggccga 7920
ttactgcacg acgcccgcag gcacggcgag atttcagcgg aggatctgtc ggcgtaacca 7980
agtcagcggg ttgtcgggtt ccggccggcg ctcggcactc ggaccggccg gcggatggtg 8040
ttctgcctct ggcgacgcgt cagctaccgc cgaaggcctg tcatcgaccg gtttcgactg 8100
aagtatgagc aacgtcacag cctgtgattg gatgatccgc tcacgctcga ccgctacctg 8160
ttcagctgcc gcccgctggg catgagcaac ggccaactct cgttcaa 8207

<210> 92

<211> 8211

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-QT2

<400> 92

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttcccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccccca tgcacagcat 300
cgcgccggg gtggagtca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaaggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccgt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca ttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg ttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgcttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaacc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1380

aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcgagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgcctgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgctcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcacgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttcttgccg cggcgggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaatacag gagtcgata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag cctcaacc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgca cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgt caagccttcg tcttggtcc cgccaccaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttccca ttatgattct tctcgcttc ggcgcatcg ggatgcccgc 2280
gttgaggcc atgtgtcca ggcaggtaga tgacgacat caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggt cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcga aaccaacct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg ccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcggt gcgcacgtg caccactacg acgacatcg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgctcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccg 3120

ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcggttgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ecgaggacca ccggcagggc atcgcccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tctctccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ctttctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cactttttaa gtctgtctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgcac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctgggt tattgtgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860

tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag 5040
cggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatatgta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcgggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcttg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcggtagg tcaccaaccg gggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtaggt 6000
cgactagttc agtgatgggt atggtgatgc tcgagagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatggc gtgatgggtga tggtagggc ccatatgtat atctccttct 6120
taaagttaaa caaaattatt tctagacgcc gtccacgctg cctcctcacg tgacgtgagg 6180
tgcaagcccg gacgttccgc gtgccacgcc gtgagccgcc gcgtgccgtc ggctccctca 6240
gcccgggcgg ccgtgggagc ccgcctcgat atgtacaccc gagaagctcc cagcgtcctc 6300
ctgggcccgc atactcgacc accacgcacg cacaccgcac taacgattcg gccggcgctc 6360
gattcggccg gcgctcgatt cggccggcgc tcgattcggc cggcgctcga ttcggccggc 6420
gctcgattcg gccgagcaga agagtgaaca accaccgacc acgcttccgc tctgcgcgcc 6480
gtacccgacc tacctcccgc agctcgaagc agtcccggg agtaccgccg tactcaccgc 6540
cctgtgtca ccatccaccg acgcaaagcc caaccgagc acacctttg caccaagggtg 6600

ccgaccgtgg ctttccgctc gcagggttcc agaagaaatc gaacgatcca gcgcggcaag 6660
gttcaaaaag caggggttgg tggggaggag gttttggggg gtgtcgccgg gataacctgat 6720
atggctttgt tttgcgtagt cgaataattt tccatatagc ctcggcgcgt cggactcgaa 6780
tagttgatgt gggcgggcac agttgcccc tgaatccgc aacggggggc gtgctgagcg 6840
atcggcaatg ggcggatgcg gtgttgcttc cgcaccggcc gttcgcgacg aacaacctcc 6900
aacgaggtca gtaccggatg agccgcgacg acgcattggc aatgcggtac gtcgagcatt 6960
caccgcacgc gttgctcgga tctatcgtca tcgactgca tcacgttgac gcccgcatgc 7020
gcgcattcga gcaacctcc gaccatccgg cgccgaactg ggctgcacaa tcgccgtccg 7080
gccgcgcaca catcgatgg tggctcggcc ccaaccacgt gtgccgcacc gacagcgccc 7140
gactgacgcc actgcgtac gcccaccgca tcgaaaccgg cctcaagatc agcgtcggcg 7200
gcgatttcgc gtatggcggg caactgacca aaaacccgat tcaccccgat tgggagacga 7260
tctacggccc ggccaccccg tacacattgc ggcagctggc caccatccac acacccggc 7320
agatgcccg tcggcccgat cgggccgtgg gcctgggccc caacgtcacc atgttcgacg 7380
ccacccggcg atgggcatac ccgcagtggg ggcaacaccg aaacggaacc ggccgcgact 7440
gggaccatct cgtcctgcag cactgccacg ccgtcaacac cgagttcacg acaccactgc 7500
cgttcaccga agtacgcgcc accgcgcaat ccatctccaa atggatctgg cgcaattica 7560
ccgaagaaca gtaccgagcc cgacaagcg atctcggtca aaaaggcggc aaggcaacga 7620
cactcgccaa acaagaagcc gtccgaaaca atgcaagaaa gtacgacgaa catacgatgc 7680
gagaggcgat tatctgatgg gcggagccaa aaatccggtg cgccgaaaga tgacggcagc 7740
agcagcagcc gaaaaattcg gtgcctccac tcgcacaatc caacgcttgt ttgctgagcc 7800
gcgtgacgat tacctcggcc gtgcgaaagc tcgccgtgac aaagctgtcg agctgcggaa 7860
gcaggggttg aagtaccggg aaatcgccga agcgatggaa ctctcgaccg ggatcgtcgg 7920
ccgattactg cacgacgccc gcaggcacgg cgagatttca gcggaggatc tgtcggcgta 7980
accaagtcag cgggttgtcg ggttcggcc ggcgtcggc actcggaccg gccggcggat 8040
ggtgttctgc ctctggcgca gcgtcagcta ccgccgaagg cctgtcatcg accggcttcg 8100
actgaagtat gagcaacgtc acagcctgtg attggatgat ccgctcacgc tcgaccgcta 8160
cctgttcagc tgccgcccgc tgggcatgag caacggccaa ctctcgttca a 8211

<210> 93

<211> 8275

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-RT1

<400> 93

gttaacgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggg aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccg cgtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacggggg 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctcgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggtggc cttgtgttc ggcagcgaaa aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgcttttaggc ttgacccccg 1200

agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctgggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgcctcgttc 1560
gctacttggg gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcacgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgccta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgcgg cggcgggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaattgcag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ctttaaccc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgcg ccatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactggctc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgcccgc 2280
gttgaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgaccat cagggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgta cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcga aaccaaccct tggcagaaca tatccatcg gtcgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg ccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940

gagtgcggt gcgcacgtg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tggttctaccg ggagctgggc ttcccgctcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgacccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgtgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcactcccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcgggtc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctggt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttgggt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680

cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt ctaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggtcgt gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcggga caggtatccg gtaagcggca gggctcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttctcg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcggtagg tcaccaaccg gggtagaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagttc agtgatgggt atggatgatgc tcgagagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatatg gtgatgggtga tggtagccca tggatatct ctttcttaaa 6120
gttaaacaaa attatttcta gacgccgtcc acgctgcctc ctcacgtgac gtgaggtgca 6180
agcccggacg ttccgcgtgc cagccgtga gccgccgct gccgtcggct ccctcagccc 6240
gggcggccgt gggagccgc ctcgatatgt acaagcatgg ggactcgccg cggactagcg 6300
gcttcccgac acgccgtact gaccagcaga tcagcgataa acgctgtttc tgctgggtta 6360
gtggataaaa accaaataat cgatgaacct cgaggtggag tatccgagct gaactagctg 6420

gatttactcc gaaaatacga gcggcgacga aggggtgttg accaccctgc cgccgccttc 6480
gaggctccta cttgactagg accccgctcg ttatgaccag cgtaagtgt gaacaccttt 6540
ccggcaaaga ccggccccct gtcctcgtgt cgtccgataa gcgcggcatc cggcacgaac 6600
ttcgacccaa acttcaacaa atcaccacgt cagaaacttt taatgcgtgc ggccggccga 6660
tttccggcgt gaacgggtgt accatcgtca acggtcceaa aggttccgga tttggaggcc 6720
ttcgctcctg cggaagggtc tggatctgcc cctgctgtgc gggaaaagtc ggcgcacatc 6780
gagcagacga aatttctcaa gttgttgctc atcaactcgg gactggatct gttgcgatgg 6840
tgaccatgac catgcgcat accgctgggc agcgtttgca tgatttgttg actggacttt 6900
cggcagcctg gaaagctgcg accaatggcc gccgatggcg taccgaacgt gaaatgtacg 6960
gctgcgacgg atacgtacga gctgttgaaa tctctcacgg aaaaaacggt tggcacgttc 7020
acgtccacgc tctactcatg ttacgcggtg acgtgagtga gaacatcctc gaatccttct 7080
cggatgcgat gttcgatcgg tggacctcca aactcgtgtc tctgggattt gctgcgccac 7140
tacgtaattc aggtggactc gacgtaagaa agattggttg agaagctgac caagtctcgc 7200
ctgcatacct gacgaaaatt gcatccgggg tcggcatgga agtcggcagt ggcgacggaa 7260
aaagtggctg gcacggcaac cgtgcacctt gggaaatcgc cgttgatgca gtcggaggag 7320
atccacaagc gttggaactc tggcgcgagt ttgagttcgg ttcgatggga cgccgagcaa 7380
tcgcatggtc tcgtggactg cgcgcccag ctggtcttgg cgtagaactc acggatgctc 7440
agattgtcga acaggaagaa tctgccccgg tcatggttgc gatcattccg gtcggtcct 7500
ggatgatgat tcggaactgt gcgccttacg ttttcggaga gatccttggc ctcgtggaag 7560
cgggcgcgac ctgggaaaac cttcgtgacc acttgcatta tcgattgcct gcagcggatg 7620
tgcggcctcc gataatatcg attcgtagt gaaatgtctt ggtgtgcaac aactttcact 7680
cgtatgaacc acacttgagg gcatccccc gatacttgcc gctttgaagc tgggtgtctc 7740
tctgtcaggg ctgcgatagc accgcgtagc ggcttggcct tgacagagag acggcctgtt 7800
tcatggttgg tctcgggggg ctgaccgggc agatagaaaa aggccggccg atttggtcgc 7860
cgactatttt tgcaggtaaa cccatctcat gagcatcaat gaacgtcccg ttggtatcgc 7920
agcgaatgca gcttcggtag acgtcgatgg cgttgtgat ggtgtgtatc tctcgttta 7980
tgggcaagaa atcacgctag atcgagatga tgcgttccta ctctcgatc gacttcagga 8040
cgcgttgca cctcaagcca actaagaacc ctccagatgg tctaaacgag gcgcaaactc 8100
gctcctgggc ctgcgggcgg agcaccgaag cgcgagcgaa gcggagcgcg taggtggggg 8160

agcctgcggg cagcggcggc ggagccgccg ccttggtaat aggtgatcat cggggccata 8220
gcaggtcaga ggatgttttt acgatgactc atgctcacca cgccaagtac tgatg 8275

<210> 94

<211> 8279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-RT2

<400> 94

gttaacgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttcccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaattcgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgcccggg gtggagtcca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgctgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc ctgtctgttc ggcagcgaaa aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atccccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960

tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgtttctca cgcttttaggc ttgaccccgg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc cttgatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1560
gctacttggg gccactatcg actacgcgat catggcgacc acacccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcacgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgccta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctggtggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgcgg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaatacag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag cttcaaccc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacagggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgca cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcttggtcc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttccca ttatgattct tctcgcttc ggcgcatcg ggatgcccgc 2280
gttgaggcc atgtgtcca ggcaggtaga tgacgacat cagggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggt cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcga aaccaacct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700

atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcagggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcgga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgtgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcaccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atgcccgcac accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcg caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcgggt ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tactcccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgccctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt ccttttttg cggcattttg ccttcctggt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcc 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440

cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctgggt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggg aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acgggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccatttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatatgta ccgataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggctcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttctctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcgggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcacc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagtgc agtgatgggt atggtgatgc tcgagagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatggc gtgatggtga tgggtgatggc ccatatgtat atctccttct 6120
taaagttaaa caaaattatt tctagacgcc gtccacgctg cctcctcacg tgacgtgagg 6180

tgcaagcccg gacgttccgc gtgccacgcc gtgagccgcc gcgtgccgtc ggctccctca 6240
gcccgggagg ccgtgggagc ccgcctcgat atgtacaagc atggggactc gccgcggact 6300
agcggcttcc cgacacgccg tactgaccag cagatcagcg ataaacgctg tttctgctgg 6360
ttaagtggat aaaaacaaaa taatcgatga acctcgaagt ggagtatccg agctgaacta 6420
gctggattta ctccgaaaaat acgagcggcg acgaagggtg ttggaccacc ctgccgccgc 6480
cttcgaggct cctacttgac taggaccccg ctcgttatga ccagcgtaag tgctgaacac 6540
ctttccggca aagaccggcc ccctgtcctc gtgtcgtccg ataagcgcgg catccggcac 6600
gaacttcgac caaacttca acaaatcacc acgtcagaaa cttttaatgc gtgcggccgg 6660
ccgatttccg gcgtgaacgg tgtgaccatc gtcaacggtc ccaaagggtc cggatttggg 6720
ggccttcgct cctgcggaaa gggctggatc tgccctgct gtgcgggaaa agtcggcgca 6780
catcgagcag acgaaatttc tcaagttgtt gctcatcaac tcgggactgg atctgttgcg 6840
atggtgacca tgaccatgcg ccataccgct gggcagcggt tgcatgattt gtggactgga 6900
ctttcggcag cctggaaagc tgcgaccaat ggccgccgat ggcgtaccga acgtgaaatg 6960
tacggctgcg acggatacgt acgagctggt gaaatcactc acggaaaaaa cggttggcac 7020
gttcacgtcc acgtctact catgttcagc ggtgacgtga gtgagaacat cctcgaatcc 7080
ttctcggatg cgatgttcga tcggtggacc tccaaactcg tgtctctggg atttgctgcg 7140
ccactacgta attcaggtgg actcgacgta agaaagattg gtggagaagc tgaccaagtt 7200
ctcgtgcat acctgacgaa aattgcatcc ggggtcggca tggaagtcgg cagtggcgac 7260
ggaaaaagtg gtcggcacgg caaccgtgca ccttgggaaa tcgccgttga tgcagtcgga 7320
ggagatccac aagcgttggg actctggcgc gagtttgagt tcggttcgat gggacgccga 7380
gcaatcgcat ggtctcgtgg actgcgcgcc cgagctggtc ttggcgtaga actcacggat 7440
gctcagattg tcgaacagga agaattgcc ccggtcatgg ttgcgatcat tccggctcgg 7500
tcctggatga tgattcggaa ctgtgcgcct tacgttttcg gagagatcct tggactcgtg 7560
gaagcgggag cgacctggga aaaccttcgt gaccatttgc attatcgatt gcctgcagcg 7620
gatgtgcggc ctccgataat atcgattcgt aagtgaaatg tcttgggtg caacaacttt 7680
cactcgtatg aaccacactt gagggcatcc cccgatact tgccgcttg aagctgggtg 7740
tctctctgtc agggctgcga tagcaccgag tagcggcttg gccttgacag agagacggcc 7800
tgtttcatgg ttggtctcgg ggggctgacc gggcagatag aaaaaggccg gccgatttgg 7860
ctgccgacta tttttgcagg taaaccatc tcatgagcat caatgaacgt cccgttggtg 7920

tcgcagcgaa tgcagcttcg gtagacgtcg atggcggtgt gatgggtgtg tatctctcgc 7980
tttatgggca agaaatcacg ctagatcgag atgatgcgtt cctactcctc gatcgacttc 8040
aggacgcgtt gcgacctcaa gccaaactaag aaccctccag atggtctaaa cgaggcgcaa 8100
actcgctcct gggcctgcgg gcggagcacc gaagcgcgag cgaagcggag cgcgtaggtg 8160
ggggagcctg cgggcagcgg cggcggagcc gccgccttgg taataggtga tcatcggggc 8220
catagcaggt cagaggatgt ttttacgatg actcatgctc accacgcaa gtactgatg 8279

<210> 95

<211> 8384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-QC1

<400> 95

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatecgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgagc cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgccctt 720

cattcggggac agcgggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagacgcata cgaaacctcc acccactca cctagtcga catccgtacc ttggaaaccg 1200
acctgtattg gcatttcagt tggacatcga ccagtggcgt tgctaggttc aagaccatgt 1260
ccagcccga ggcgtccaga ctctagccac cggaggtagt ccggtggcca catcccgtcg 1320
cgcccgaacg tcacgtctt gtgtggcctt cccttgttgt ttgcatcag tggcacacct 1380
ctaccgtctg aatttcgagt ctggcctcgg ctgcgcacat ctcgcactgt gacgtgtca 1440
ggtcacccgc ttcgcggcta ccagttcctt tcatcgaatc gagcttccgg tgccgccgcg 1500
cagcctccct gaccatctc agattttatg gagtctcgca gtgcctttcg ctatctacgt 1560
cctcgggctt gctgtcttcg cccagggcac atccgagttc atgttgtccg gactcatacc 1620
ggacatggcc cgtgacctcg gggtttcggt cccgccgcc ggactcctca cctccgcctt 1680
cgcggtcggg atgatcatcg gcgctccgtt gatggctatc gccagcatgc ggtggccccg 1740
gcgacgcgcc cttctgacat tcctcatcac gttcatgctg gtccacgtca tcggcgcgct 1800
caccagcagc ttcgaggtct tgctggtcac acgcategtg ggagccctcg ccaatgccgg 1860
attcttggca gtggcccttg gggcggcgat ggcatgggtg cccgccgaca tgaaagggcg 1920
cgccacgtcc gtctcctcg gcggtgtcac gatcgcatgt gtagccggtg ttcccggggg 1980
cgccttcctg ggtgaaatgt ggggctggcg tgcagcgttc tgggctgtcg tcgtcatctc 2040
cgccccgtca gtggtggcga ttatgttcgc caccgccgcc gagccgcttg cagagtccac 2100
accgaatgcc aagcgtgaac tgtcctcact gcgctcacgc aagctccagc tcatgcttgt 2160
cctcggggcg ctgatcaacg gcgcaacgtt ctgttcgttc acgtacatgg cgcccacgct 2220
caccgacatc tccggtttcg actcccgttg gattccgttg ctgctggggc tgttcgggct 2280
cggatcgttc atcgggtgtca gcgtcggagg caggctcgcc gacaccggc cgttccaact 2340
gctcgtgtc gggtcgcag cactgttgac gggatggatc gtcttcgctc tcacggcatc 2400
ccaccccgcg gtgacattgg tgatgctgtt cgtgcagggc gctttgtcct tcgcggtcgg 2460

ctcgactttg atctcccagg tgctctacgc cgccgacgcg gcaccgacct tgggtggatc 2520
gttcgcgacg gccgcgttca acgtcgggtgc tgcactggga ccggcgctcg gcgggttggc 2580
gatcgcatg ggtctgagct accgcgcccc gctctggacg agcgccgcgc tggtagacct 2640
cgcgatcgtc atcggcgag ccaccttgtc tctgtggcgg cgaccagcgt ctgtccacga 2700
atctgtcccc gcctgaccag aaaccaggat ctgtgagtgt ggtgactgat ctgtgcacgc 2760
tcagcagtca ccgcgcgctc gcgtcgtacc gagggccagc gccaacaggt gtgtggagct 2820
ctgccccctgc ctctttcacg cgaactcact gttcagtgcg gcgatacgtg ctcggtgagt 2880
tccactacag cgaccatgac tagaattgat ctctcgcacc gccaatggg catctgagaa 2940
tcattctcgt ttctcgcacg caacgtactt gcaacgttgc aactcctagt gttgtgaatc 3000
acacccacc ggggggtggg attgcagtca ccgatttggg ggggtgcgcc aggaagatca 3060
cgtttacata ggagcttgca atgagctact ccgtgggaca ggtggccggc ttcgccggag 3120
tgacggtgcg cacgtgcac cactacgacg acatcggcct gctcgtaccg agcgagcgca 3180
gccacgcggg ccaccggcgc tacagcgacg ccgacctga ccggctgcag cagatcctgt 3240
tctaccggga gctgggcttc ccgctcgacg aggtcgccgc cctgctcgac gaccggccg 3300
cggacccgcg cgcgcacctg cgccgccagc acgagctgct gtccgcccgg atcgggaaac 3360
tgcagaagat ggcggcggcc gtggagcagg cgatggaggc acgcagcatg ggaatcaacc 3420
tcaccccgga ggagaagttc gaggtcttcg gcgacttca ccccgaccag tacgaggagg 3480
aggtccggga acgctggggg aacaccgacg cctaccgcca gtccaaggag aagaccgcct 3540
cgtaaccaa ggaggactgg cagcgcatcc aggacgaggc cgacgagctc acccggcgt 3600
tcgtcgccct gatggacgcg ggtgagcccc ccgactcca gggggcgatg gacgccgcg 3660
aggaccaccg gcagggcatc gcccgcaacc actacgactg cgggtacgag atgcacacct 3720
gcctgggcga gatgtacgtg tccgacgaac gtttcacgcg aaacatcgac gccgccaagc 3780
cgggcctcgc cgcctacatg cgcgacgca tcctcgcaa cgccgtccgg cacacccct 3840
gagcggtggt cgtggcccgg gtctccgcc cggtctcacc ccacggctca ctcccgggcc 3900
acgaccaccg ccgtcccgtc cgcgcacacc tcggtgcca cgccgccgc ctccgtcacg 3960
tcgaaacgga agatccccgg gtaccgagct cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc 4020
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 4080
aataaccctg ataatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 4140
tccgtgtcgc cttattccc ttttttcgg cattttgcct tcctgtttt gctcaccag 4200

aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 4260
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaagaa cgttttccaa 4320
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcgggtatt atcccgtatt gacgccgggc 4380
aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctacagaatga cttgggttgag tactcaccag 4440
tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 4500
ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 4560
taaccgcttt ttgcacaaac atgggggcatc atgtaactcg cttgatcgtg tgggaaccgg 4620
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 4680
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 4740
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 4800
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggg atcattgcag 4860
cactggggcc agatggtaag ccctcccgtg tcgtagttag ctacacgacg gggagtcagg 4920
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 4980
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 5040
aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccttaac 5100
gtgagtttct gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 5160
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 5220
tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 5280
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 5340
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatect gttaccagtg gctgctgcca 5400
gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 5460
agcggtcggg ctgaacgggg gggtcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 5520
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaa 5580
aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 5640
cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 5700
gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 5760
cctttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 5820
cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca 5880
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 5940

aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac tagagtcccg 6000
ctgaggcggc gtagcaggtc agccgcccc a gcggttgtca ccaaccgggg tggaacggcg 6060
ccggtatcgg gtgtgtccgt ggcgctcatt ccaacctccg tgtgtttgtg caggtttcgc 6120
gtgttcagtc ccctcgcacc ggcacccgca gcgaggggct cacgggtgcc ggtgggtcga 6180
ctagttcagtc gatggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 6240
cgtagaattc ccatatgggtg atggtgatgg tggcccatgg tataatctct tcttaaagtt 6300
aaacaaaatt atttctagac gccgtccacg ctgcctctc acgtgacgtg aggtgcaagc 6360
ccggacgttc cgcgtgccac gccgtgagcc gccgcgtgcc gtcggctccc tcagcccggg 6420
cggccgtggg agcccgctc gatatgtaca cccgagaagc tcccagcgtc ctctggggc 6480
gcgatactcg accaccacgc acgcacaccg cactaacgat tcggccggcg ctcgattcgg 6540
ccggcgctcg attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat 6600
tcggccgagc agaagagtga acaaccaccg accacgcttc cgctctgcgc gccgtaccg 6660
acctacctc cgcagctcga agcagctccc gggagtaccg ccgtactcac ccgcctgtgc 6720
tcaccatcca ccgacgcaaa gcccaaccg agcacacctc ttgcaccaag gtgccgaccg 6780
tggctttccg ctgcgagggt tccagaagaa atcgaacgat ccagcgcggc aaggttcaaa 6840
aagcaggggt tgggtggggag gaggttttgg ggggtgtcgc cgggatacct gatatggctt 6900
tgttttgcgt agtcgaataa ttttccatat agcctcggcg cgctcgactc gaatagttga 6960
tgtgggcggg cacagttgcc ccatgaaatc cgcaacgggg ggcgtgctga gcgatcggca 7020
atgggcggat gcggtgttgc ttccgcaccg gccgttcgcg acgaacaacc tccaacgagg 7080
tcagtaccgg atgagccgcg acgacgcatt ggcaatgcgg tacgtcgagc attcaccgca 7140
cgcgttgctc ggatctatcg tcatcgactg cgatcacgtt gacgccgcga tgcgcgcatt 7200
cgagcaacca tccgaccatc cggcgccgaa ctgggtcgca caatgccgt ccggccgcgc 7260
acacatcgga tgggtggctcg gcccaccca cgtgtgccgc accgacagcg cccgactgac 7320
gccactgcgc tacgcccacc gcatcgaaac cggcctcaag atcagcgtcg gcggcgattt 7380
cgcgtatggc gggcaactga ccaaaaacc gattcacccc gattgggaga cgatctacgg 7440
cccggccacc ccgtacacat tgcggcagct ggccaccatc cacacacccc ggcagatgcc 7500
gcgtcggccc gatcgggccc tgggcctggg ccgcaacgtc accatgttcg acgccacccg 7560
gcgatgggca taccgcagtc ggtggcaaca ccgaaacgga accggccgcg actgggacca 7620
tctcgtctg cagcactgcc acgccgtcaa caccgagttc acgacaccac tgccgttcac 7680

cgaagtacgc gccaccgcgc aatccatctc caaatggatc tggcgcaatt tcaccgaaga 7740
acagtaccga gcccagacaag cgcattctcg tcaaaaaggc ggcaaggcaa cgacactcgc 7800
caaacaagaa gccgtccgaa acaatgcaag aaagtacgac gaacatacga tgcgagaggc 7860
gattatctga tgggcgaggc caaaaatccg gtgcgccgaa agatgacggc agcagcagca 7920
gccgaaaaat tcggtgcctc cactcgcaca atccaacgct tgtttgctga gccgcgtgac 7980
gattacctcg gccgtgcgaa agctcgccgt gacaaagctg tcgagctgcg gaagcagggg 8040
ttgaagtacc gggaaatcgc cgaagcgatg gaactctcga ccgggatcgt cggccgatta 8100
ctgcacgacg cccgcaggca cggcgagatt tcagcggagg atctgtcggc gtaaccaagt 8160
cagcgggttg tcgggttccg gccggcgctc ggcaactcga ccggccggcg gatggtgttc 8220
tgcccttggc gcagcgtcag ctaccgccga aggcctgtca tcgaccggct tcgactgaag 8280
tatgagcaac gtcacagcct gtgattggat gatccgctca cgctcgaccg ctacctgttc 8340
agctgccgcc cgctgggcat gagcaacggc caactctcgt tcaa 8384

<210> 96

<211> 8388

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-QC2

<400> 96

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttcccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaattccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgcccggtg gtggagttca tcgaggctta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360

gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttccggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacggggg 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcggaac cggcgctctc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggc cgcgaggagg ccatcgcctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctccggttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagacgcata cgaaacctcc accccactca cctagtccga catccgtacc ttggaaaccg 1200
acctgtattg gcatttcagt tggacatcga ccagtggcgt tgctagggtc aagaccatgt 1260
ccagcccga ggcgtccaga ctctagccac cggaggtagt ccggtggcca catcccgtcg 1320
cgcccgaacg tcacgtcttt gtgtggcctt cccttgttgt ttgcgatcag tggcacacct 1380
ctaccgtctg aatttcgagt ctggcctcgg ctgcgcacat ctgcactgt gacgtgtca 1440
ggtcacccgc ttgcgggcta ccagttcctt tcatcgaatc gagcttccgg tgccgccgcg 1500
cagcctccct gaccatcctc agattttatg gagtctcgca gtgcctttcg ctatctacgt 1560
cctcgggctt gctgtcttcg ccaggggcac atccgagttc atgttgtccg gactcatacc 1620
ggacatggcc cgtgacctcg gggtttcggc cccgcgccg ggactcctca cctccgcctt 1680
cgcggtcggg atgatcatcg gcgctccgtt gatggctatc gccagcatgc ggtggccccg 1740
gcgacgcgcc cttctgacat tcctcatcac gttcatgctg gtccacgtca tcggcgcgct 1800
caccagcagc ttcgaggtct tgctgggtcac acgcatcgtg ggagccctcg ccaatgccgg 1860
attcttggca gtggccctgg gggcgggcgat ggcatgggtg cccgccgaca tgaaagggcg 1920
cgccacgtcc gtctctctcg gcggtgtcac gatcgcatgt gtagccggtg ttcccggggg 1980
cgcttctctg ggtgaaatgt ggggctggcg tgcagcgttc tgggctgtcg tcgtcatctc 2040
cgcccctgca gtggtggcga ttatgttcgc caccgggcc gagccgcttg cagagtccac 2100

accgaatgcc aagcgtgaac tgtcctcact gcgctcacgc aagctccagc tcatgcttgt 2160
cctcggggcg ctgatcaacg gcgcaacgtt ctgttcgttc acgtacatgg cgcccacgct 2220
caccgacatc tccggtttcg actcccgttg gattccgttg ctgctggggc tgttcgggct 2280
cggatcgttc atcgggtgtca gcgtcggagg caggctcgcc gacacccggc cgttccaact 2340
gctcgtgtc ggggtccgag cactgttgac gggatggatc gtcttcgctc tcacggcatc 2400
ccaccccgcg gtgacattgg tgatgctgtt cgtgcagggc gctttgtcct tcgcggtcgg 2460
ctcgactttg atctcccagg tgctctacgc cgccgacgcg gcaccgacct tgggtggatc 2520
gttcgcgacg gccgcgttca acgtcgggtgc tgcactggga ccggcgctcg gcgggttggc 2580
gatcggcatg ggtctgagct accgcgcccc gctctggacg agcgccgcg tggtgacact 2640
cgcgatcgtc atcggcgag ccacctgtc tctgtggcgg cgaccagcgt ctgtccacga 2700
atctgtcccc gcctgaccag aaaccaggat ctgtgagtgt ggtgactgat ctgtgcacgc 2760
tcagcagtca ccgcgcgtc gcgtcgtacc gagggccagc gccaacaggt gtgtggagct 2820
ctgcccctgc ctcttcacg cgaactcact gttcagtgcg gcgatacgtg ctcggtgagt 2880
tccactacag cgacatgac tagaattgat ctctcgacc gccaatggg catctgagaa 2940
tcatctgcgt ttctcgacg caacgtactt gcaacgttgc aactcctagt gttgtgaatc 3000
acaccccacc ggggggtggg attgcagtca ccgatttggg ggggtgcgcc aggaagatca 3060
cgtttacata ggagcttgca atgagctact ccgtgggaca ggtggccggc ttccgggag 3120
tgacggtgcg cacgctgcac cactacgacg acatcggcct gctcgtaccg agcgagcgca 3180
gccacgcggg ccaccggcg tacagcgacg ccgacctga ccggtgcag cagatcctgt 3240
tctaccggga gctgggcttc ccgctcgacg aggtcgccgc cctgctcgac gacccggccg 3300
cggaccccg cgcgcacctg cgccgccagc acgagctgct gtccgcccgg atcgggaaac 3360
tgcagaagat ggcggcggcc gtggagcagg cgatggaggc acgcagcatg ggaatcaacc 3420
tcaccccgga ggagaagtgc gaggtcttcg gcgacttcga ccccgaccag tacgaggagg 3480
aggctccggga acgtggggg aacaccgacg cctaccgcca gtccaaggag aagaccgcct 3540
cgtacaccaa ggaggactgg cagcgcatcc aggacgaggc cgacgagctc acccggcgct 3600
tcgtcgccct gatggacgcg ggtgagcccg ccgactccga gggggcgatg gacgccgccg 3660
aggaccaccg gcagggcatc gcccgaacc actacgactg cgggtacgag atgcacacct 3720
gcctgggcga gatgtacgtg tccgacgaac gtttcacgcg aaacatcgac gccgccaagc 3780
cgggcctcgc cgcctacatg cgcgacgcga tcctcgccaa cgccgtccgg cacaccccct 3840

gagcgggtggt cgtggcccggt gtctcccgcc cgggtctcacc ccacgggtca ctcccggggcc 3900
acgaccaccg ccgtcccgtta cgcgcacacc tcgggtgcca cgtccgcccgc ctccgtcacg 3960
tcgaaacgga agatccccgg gtaccgagct cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc 4020
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcagtgcac 4080
aataaccctg ataatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 4140
tccgtgtcgc ctttattccc ttttttgagg cattttgcct tcctgttttt gctcaccag 4200
aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 4260
aactggatct caacagcgggt aagatccttg agagttttcg cccgaagaa cgttttccaa 4320
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcgggtatt atcccgtatt gacgccgggc 4380
aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctgagaatga cttgggtgag tactcaccag 4440
tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 4500
ccatgagtga taacactgcg gccaaactac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 4560
taaccgcttt ttgacacaac atgggggatc atgtaactcg cttgatcgt tgggaaccgg 4620
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 4680
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 4740
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 4800
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcgggt atcattgcag 4860
cactggggcc agatggtaag ccctcccgtta tcgtagtatt ctacacgacg gggagtcagg 4920
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 4980
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 5040
aatttaaaag gatctagggtg aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccttaac 5100
gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 5160
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 5220
tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 5280
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 5340
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatacct gttaccagtg gctgctgcca 5400
gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 5460
agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 5520
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cagccttccc gaagggagaa 5580

aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 5640
cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 5700
gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 5760
cctttttacg gttcctggcc ttttctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 5820
cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cttttgagtg agctgatacc gctcgccgca 5880
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 5940
aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac tagagtcccg 6000
ctgaggcggc gtagcaggtc agccgcccc gcggtggtca ccaaccgggg tggaacggcg 6060
ccggtatcgg gtgtgtccgt ggcgctcatt ccaacctccg tgtgtttgtg caggtttcgc 6120
gtgttgcaat ccctcgcacc ggcacccgca gcgaggggct cacgggtgcc ggtgggtcga 6180
ctagttcagt gatggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttgatcc gcggccgcta 6240
cgtagaattc ccatggcgtg atggtgatgg tgatggcca tatgtatatc tccttcttaa 6300
agttaaaca aattatttct agacgccgtc cacgtgcct cctcacgtga cgtgaggtgc 6360
aagcccggac gttccgctg ccacgccgtg agccgccgag tgccgtcggc tccctcagcc 6420
cgggcggccg tgggagcccg cctcgatatg tacacccgag aagctccag cgtcctcctg 6480
ggccgcgata ctcgaccacc acgcacgac accgcactaa cgattcggcc ggcgctcgat 6540
tcggccggcg ctcgattcgg ccggcgctcg attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct 6600
cgattcggcc gagcagaaga gtgaacaacc accgaccag cttccgctct gcgcgccgta 6660
cccgcctac ctccgcagc tcgaagcagc tcccgggagt accgccgtac tcacccgcct 6720
gtgctacca tccaccgacg caaagcccaa cccgagcaca cctcttgac caaggtgccg 6780
accgtggctt tccgctcgca gggttccaga agaaatcgaa cgatccagcg cggcaagggt 6840
caaaaagcag gggttggtgg ggaggagggt ttgggggggtg tcgccgggat acctgatatg 6900
gctttgtttt gcgtagtga ataattttcc atatagcctc ggcgcgctcg actcgaatag 6960
ttgatgtggg cgggcacagt tgcccatga aatccgcaac ggggggctg ctgagcgatc 7020
ggcaatgggc ggatgcggtg ttgcttccgc accggccgtt gcgcacgaac aacctccaac 7080
gaggtcagta ccggtgagc gcgcacgac cattggcaat gcggtacgtc gagcattcac 7140
cgcacgcgtt gctcggtatc atcgatcgc actgcgatca cgttgacgcc gcgatgcgcg 7200
cattcgagca accatccgac catccggcgc cgaactgggt cgcacaatcg ccgtccggcc 7260
gcgcacacat cggatggtgg ctcggcccca accacgtgtg ccgcaccgac agcggccgac 7320

tgacgccact gcgctacgcc caccgcatcg aaaccggcct caagatcagc gtcggcggcg 7380
atttcgcgta tggcgggcaa ctgaccaaaa acccgattca ccccgattgg gagacgatct 7440
acggccccggc caccctgtac acattgcggc agctggccac catccacaca ccccggcaga 7500
tgccgcgtcg gcccgatcgg gccgtgggccc tgggccgcaa cgtcaccatg ttcgacgcca 7560
cccggcgatg ggcatacccg cagtgggtggc aacaccgaaa cggaaccggc cgcgactggg 7620
accatctcgt cctgcagcac tgccacgccg tcaacaccga gttcacgaca ccaactgccgt 7680
tcaccgaagt acgcgccacc gcgcaatcca tctccaaatg gatctggcgc aatttcaccg 7740
aagaacagta ccgagccccga caagcgcatac tcggtcaaaa aggcggaag gcaacgacac 7800
tcgccaacaa agaagccgtc cgaaacaatg caagaaagta cgacgaacat acgatgcgag 7860
aggcgattat ctgatgggcg gagccaaaaa tccggtgcgc cgaaagatga cggcagcagc 7920
agcagccgaa aaattcgggtg cctccactcg cacaatccaa cgcttgtttg ctgagcccg 7980
tgacgattac ctcggccgtg cgaaagctcg ccgtgacaaa gctgtcgagc tgcggaagca 8040
gggggttgaag taccgggaaa tcgccgaagc gatggaactc tcgaccggga tcgtcggccg 8100
attactgcac gacgcccga ggcacggcga gatttcagcg gaggatctgt cggcgtaacc 8160
aagtcagcgg gttgtcgggt tccggcggc gctcggcact cggaccggcc ggcggatggt 8220
gttctgcctc tggcgcagcg tcagctaccg ccgaaggcct gtcacgctcg ggcttcgact 8280
gaagtatgag caacgtcaca gcctgtgatt ggatgatccg ctcacgctcg accgctacct 8340
gttcagctgc cgcccgctgg gcatgagcaa cggccaactc tcgttcaa 8388

<210> 97

<211> 8452

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-RC1

<400> 97

gttaacgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgcccggt gtggagtcca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagt acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaaggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctccgtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtcttc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcgccc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagacgcac cgaaacctcc accccactca cctagtccga catccgtacc ttggaaaccg 1200
acctgtattg gcatttcagt tggacatcga ccagtggcgt tgctagggtc aagaccatgt 1260
ccagcccga ggcgtccaga ctctagccac cggaggtagt ccggtggcca catcccgtcg 1320
cgcccgaacg tcacgtctt gtgtggcctt cccttggtgt ttgcgatcag tggcacacct 1380
ctaccgtctg aatttcgagt ctggcctcgg ctgcgcacat ctgcactgt gacgtgtca 1440
ggtcacccgc ttcgcggcta ccagttcctt tcatcgaatc gagcttccgg tgccgccgcg 1500
cagcctccct gaccatctc agattttatg gagtctcgca gtgcctttcg ctatctacgt 1560
cctcgggctt gctgtcttcg ccagggcac atccgagttc atgttgtccg gactcatacc 1620
ggacatggcc cgtgacctcg gggtttcggt ccccgccgcc ggactcctca cctcgcctt 1680
cgcggtcggg atgatcatcg gcgtccgtt gatggctatc gccagcatgc ggtggccccg 1740

gcgacgcgcc cttctgacat tctcatcac gttcatgctg gtccacgtca tcggcgcgct 1800
caccagcagc ttcgaggctt tgctgggtcac acgcatcgtg ggagccctcg ccaatgccgg 1860
attcttggca gtggccctgg gggcgccgat ggcatgggtg cccgccgaca tgaaagggcg 1920
cgccacgtcc gtcctcctcg gcggtgtcac gatcgcatgt gtagccggtg ttcccggggg 1980
cgccttcttg ggtgaaatgt ggggctggcg tgcagcggtc tgggctgtcg tcgtcatctc 2040
cgcccttgca gtgggtggga ttatgttcgc cccccggcc gagccgcttg cagagtccac 2100
accgaatgcc aagcgtgaac tgcctcact gcgtcacgc aagctccagc tcatgcttgt 2160
cctcggggcg ctgatcaacg gcgcaacgtt ctgttcgttc acgtacatgg cgccacgct 2220
caccgacatc tccggtttcg actcccgttg gattccgttg ctgctggggc tgttcgggct 2280
cggatcggtc atcgggtgtca gcgtcggagg caggctcgcc gacaccggc cgttccaact 2340
gtcgtgtgc ggggtccgag cactgttgac gggatggatc gtcttcgtc tcacggcatc 2400
ccaccccgcg gtgacattgg tgatgtgtt cgtgcagggc gctttgtcct tcgcggtcgg 2460
ctcgactttg atctcccagg tgctctacgc cgccgacgc gcaccgacct tgggtggatc 2520
gttcgcgacg gccgcgttca acgtcgggtc tgactggga ccggcgctcg gcgggttggc 2580
gatcggcatg ggtctgagct accgcgccc gctctggac agcgccgcgc tggtgacact 2640
cgcatcgtc atcggcgag ccacctgtc tctgtggcg cgaccagcgt ctgtccacga 2700
atctgtcccc gcctgaccag aaaccaggat ctgtgagtgt ggtgactgat ctgtgcacgc 2760
tcagcagtca ccgcgcgtc gcgtcgtacc gagggccagc gccaacaggt gtgtggagct 2820
ctgcccctgc ctctttcacg cgaactcact gttcagtgcg gcgatacgtg ctcggtgagt 2880
tccactacag cgacatgac tagaattgat ctctcgacc gccaattggg catctgagaa 2940
tcatctgcgt ttctcgacg caacgtactt gcaacgttgc aactcctagt gttgtgaatc 3000
acacccacc ggggggtggg attgcagtca ccgatttggg ggggtgcgcc aggaagatca 3060
cgtttacata ggagcttgca atgagctact ccgtgggaca ggtggccggc ttcgccggag 3120
tgacgggtgcg cacgtgtcac cactacgacg acatcggcct gtcgtaccg agcgagcgca 3180
gccacgcggg ccaccggcg tacagcgacg ccgacctga ccggctgcag cagatcctgt 3240
tctaccggga gctgggttc ccgtcgacg aggtcgccg cctgctcgac gaccggccg 3300
cggacccgcg cgcgcacctg cgccgccagc acgagctgt gtccgcccgg atcgggaaac 3360
tgcagaagat ggcggcgcc gtggagcagg cgatggaggc acgcagcatg ggaatcaacc 3420
tcaccccgga ggagaagttc gaggtcttcg gcgacttga ccccgaccag tacgaggagg 3480

aggtccggga acgctggggg aacaccgacg cctaccgcca gtccaaggag aagaccgcct 3540
cgtaacacaa ggaggactgg cagcgcatcc aggacgaggc cgacgagctc acccggcgct 3600
tcgtcgccct gatggacgcg ggtgagcccg ccgactccga gggggcgatg gacgccgccg 3660
aggaccaccg gcagggcatc gcccgaacc actacgactg cgggtacgag atgcacacct 3720
gcctgggcga gatgtacgtg tccgacgaac gtttcacgcg aaacatcgac gccgccaagc 3780
cgggcctcgc cgcctacatg cgcgacgca tctcgcga cgccgtccgg cacaccccct 3840
gagcgggtggc cgtggcccg gtcctccgcc cgggtctacc ccacggctca ctcccgggcc 3900
acgaccaccg ccgtcccgtc cgcgcacacc tcggtgcca cgctccgccg ctccgtcacg 3960
tcgaaacgga agatccccgg gtaccgagct cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc 4020
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 4080
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 4140
tccgtgtcgc cttattccc tttttgcgg cattttgcct tctgttttt gtcaccacag 4200
aaacgctggg gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 4260
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg cccgaagaa cgttttccaa 4320
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc 4380
aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctgagaatga cttggttag tactcaccag 4440
tcacagaaaa gcattttac gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 4500
ccatgagtga taacactgcg gccaaattac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 4560
taaccgcttt ttgacacaac atgggggatc atgtaactcg cttgatcgt tgggaaccgg 4620
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 4680
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 4740
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccattct gcgctcgcc cttccggctg 4800
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag 4860
cactggggcc agatggtaag ccctcccgtc tcgtagtatt ctacacgacg gggagtcagg 4920
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 4980
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 5040
aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgacaaa atccctaac 5100
gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 5160
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 5220

tggtttgttt gccgatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 5280
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 5340
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatact gttaccagtg gctgctgcca 5400
gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 5460
agcggtcggg ctgaacgggg gggtcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 5520
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa 5580
aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 5640
cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 5700
gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 5760
cctttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 5820
cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca 5880
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 5940
aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac tagagtcccg 6000
ctgaggcggc gtagcaggtc agccgcccc gcggtggtca ccaaccgggg tggaacggcg 6060
ccggtatcgg gtgtgtccgt ggcgctcatt ccaacctccg tgtgtttgtg caggtttcgc 6120
gtgttgagcgt ccctcgacc ggcacccgca gcgaggggct cacgggtgcc ggtgggtcga 6180
ctagttcagt gatggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 6240
cgtagaattc ccataatggtg atggtgatgg tggcccatgg tataatctct tcttaaagtt 6300
aaacaaaatt atttctagac gccgtccacg ctgcctcctc acgtgacgtg aggtgcaagc 6360
ccggacgttc cgcgtgccac gccgtgagcc gccgctgcc gtcggctccc tcagcccggg 6420
cggccgtggg agcccgctc gatatgtaca agcatgggga ctgcccgcgg actagcggct 6480
tcccgacacg ccgtactgac cagcagatca gcgataaacg ctgtttctgc tggttaagtg 6540
gataaaaacc aaataatcga tgaacctga agtggagtat ccgagctgaa ctagctggat 6600
ttactccgaa aatacagcg gcgacgaagg gtgttgacc accctgccgc cgccttcgag 6660
gtcctactt gactaggacc ccgctcgta tgaccagcgt aagtgtgaa cacctttccg 6720
gcaaagaccg gcccctgtc ctctgtctgt ccgataagcg cggcatccgg cacgaacttc 6780
gacccaaact tcaacaaatc accacgtcag aaacttttaa tgcgtgcggc cggccgattt 6840
ccggcgtgaa cggtgtgacc atcgtcaacg gtcccaaagg ttccggattt ggaggccttc 6900
gtcctgcgg aaagggtgg atctgccct gctgtgcggg aaaagtcggc gcacatcgag 6960

cagacgaaat ttctcaagtt gttgctcatc aactcgggac tggatctgtt gcgatgggtga 7020
ccatgaccat gcgccatacc gctgggcagc gtttgcata tttgtggact ggactttcgg 7080
cagcctggaa agctgcgacc aatggccgcc gatggcgtag cgaacgtgaa atgtacggct 7140
gcgacggata cgtacgagct gttgaaatca ctcacggaaa aaacggttgg cacgttcacg 7200
tccacgctct actcatgttc agcgggtgacg tgagtgagaa catcctcgaa tccttctcgg 7260
atgcgatgtt cgatcgggtg acctccaaac tcgtgtctct gggatttgct gcgccactac 7320
gtaattcagg tggactcgac gtaagaaaga ttggtggaga agctgaccaa gttctcgctg 7380
catacctgac gaaaattgca tccggggctg gcatggaagt cggcagtggc gacggaaaaa 7440
gtggtcggca cggcaaccgt gcaccttggg aaatcgccgt tgatgcagtc ggaggagatc 7500
cacaagcgtt ggaactctgg cgcgagtttg agttcggttc gatgggacgc cgagcaatcg 7560
catggtctcg tggactgcgc gcccagagctg gtcttggcgt agaactcacg gatgctcaga 7620
ttgtcgaaca ggaagaatct gccccggtca tggttgcgat cattccggct cggtcctgga 7680
tgatgattcg gaactgtgcg ccttacgttt tcggagagat ccttggactc gtggaagcgg 7740
gcgcgacctg ggaaaacctt cgtgaccact tgcattatcg attgcctgca gcggatgtgc 7800
ggcctccgat aatatcgatt cgtaagtga atgtcttgggt gtgcaacaac tttcactcgt 7860
atgaaccaca cttgagggca tcccccgat acttgccgtt ttgaagctgg gtgtctctct 7920
gtcagggctg cgatagcacc gcgtagcggc ttggccttga cagagagacg gcctgtttca 7980
tggttggtct cggggggctg accgggcaga tagaaaaagg ccggccgatt tggctgccga 8040
ctatTTTTgc aggtaaacct atctcatgag catcaatgaa cgtcccgttg gtatcgacgc 8100
gaatgcagct tcggtagacg tcgatggcgt tgtgatgggt gtgtatctct cgctttatgg 8160
gcaagaaatc acgctagatc gagatgatgc gttcctactc ctcgatcgac ttcaggacgc 8220
gttgcgacct caagccaact aagaaccctc cagatggtct aaacgaggcg caaactcgtc 8280
cctgggcctg cgggcgggagc accgaagcgc gagcgaagcg gagcgcgtag gtgggggagc 8340
ctgcgggcag cggcggcgga gccgccgcct tggtaatagg tgatcatcgg ggccatagca 8400
ggtcagagga tgTTTTtacg atgactcatg ctcaccacgc caagtactga tg 8452

<210> 98

<211> 8456

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-RC2

<400> 98

gttaacgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttcccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaattccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgggccggg gtggagtcca tcgagggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctcgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtctttctcc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgcctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttcgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagacgcac cgaaacctcc accccactca cctagtccga catccgtacc ttggaaaccg 1200
acctgtattg gcatttcagt tggacatcga ccagtggcgt tgctaggttc aagaccatgt 1260
ccagcccga ggcgtccaga ctctagccac cggaggtagt ccggtggcca catcccgtcg 1320

cgccgaacg tcacgtctt gtgtggcctt cccttgttgt ttgcgatcag tggcacacct 1380
ctaccgtctg aatttcgagt ctggcctcgg ctgcgcacat ctcgactgt gacgctgtca 1440
ggtcaccgcg ttgcgggcta ccagttcctt tcatcgaatc gagcttccgg tgccgccgcg 1500
cagcctccct gaccatcctc agattttatg gagtctcgca gtgcctttcg ctatctacgt 1560
cctcgggctt gctgtcttcg cccagggcac atccgagttc atgttgtccg gactcatacc 1620
ggacatggcc cgtgacctg gggtttcggg cccgccgcc ggactcctca cctccgcctt 1680
cgcggtcggg atgatcatc gcgtccgtt gatggctatc gccagcatgc ggtggccccg 1740
gcgacgcgcc cttctgacat tcctcatcac gttcatgctg gtccacgtca tcggcgcgct 1800
caccagcagc ttcgaggctt tgctggtcac acgcatcgtg ggagccctcg ccaatgccgg 1860
attcttggca gtggccctgg gggcgcgcat ggcatgggtg cccgccgaca tgaaagggcg 1920
cgccacgtcc gtctcctcg gcggtgtcac gatcgcattg gtagccgggtg ttcccggggg 1980
cgcttcctg ggtgaaatgt ggggctggcg tgcagcgttc tgggtgtcg tcgtcatctc 2040
cgcccctgca gtggtggcga ttatgttcgc caccgccgcc gagccgcttg cagagtccac 2100
accgaatgcc aagcgtgaac tgtctcact gcgtcacgc aagctccagc tcatgcttgt 2160
cctcggggcg ctgatcaacg gcgcaacgtt ctgttcgttc acgtacatgg cgccacgct 2220
caccgacatc tccggtttcg actccggtt gattccgtt ctgctggggc tgttcgggct 2280
cggatcgttc atcgggtgtc gcgtcggagg caggctcgcc gacaccggc cgttccaact 2340
gtcgtgtgtc ggggtccgag cactgttgac gggatggatc gtcttcgtc tcacggcatc 2400
ccaccgcggtgac gtgacattgg tgatgctgtt cgtgcagggc gctttgtcct tcgcggtcgg 2460
ctcgactttg atctcccagg tgctctacgc cgccgacgcg gcaccgacct tgggtggatc 2520
gttcgcgacg gccgcgttca acgtcgggtc tgcactggga cggcgctcg gcgggttggc 2580
gatcggcatg ggtctgagct accgcgcccc gctctggacg agcgccgcgc tggtagacct 2640
cgcgatcgtc atcggcgag ccacctgtc tctgtggcgg cgaccagcgt ctgtccacga 2700
atctgtcccc gcctgaccag aaaccaggat ctgtgagtgt ggtgactgat ctgtgcacgc 2760
tcagcagtca ccgcgcgtc gcgtcgtacc gagggccagc gccaacaggt gtgtggagct 2820
ctgccccgtc ctctttcacg cgaactcact gticagtgcg gcgatacgtg ctcgggtgagt 2880
tccactacag cgacctgac tagaattgat ctctcgacc gccaatggg catctgagaa 2940
tcactgtcgt ttctgcacg caacgtactt gcaacgttc aactcctagt gttgtgaatc 3000
acacccacc ggggggtggg attgcagtca ccgatttggg ggtgcccc aggaagatca 3060

cgtttacata ggagcttgca atgagctact ccgtgggaca ggtggccggc ttcgccggag 3120
tgacgggtgcg cacgctgcac cactacgacg acatcggcct gctcgtaccg agcgagcgca 3180
gccacgcggg ccaccggcgc tacagcgacg ccgacctga ccggctgcag cagatcctgt 3240
tctaccggga gctgggcttc ccgctcgacg aggtcgccgc cctgctcgac gaccgggccc 3300
cggacccgcg cgcgcacctg cgccgccagc acgagctgct gtccgcccgg atcgggaaac 3360
tgcagaagat ggcgggcgcc gtggagcagg cgatggaggc acgcagcatg ggaatcaacc 3420
tcaccccgga ggagaagttc gaggtcttcg gcgacttcga ccccgaccag tacgaggagg 3480
aggtccggga acgctggggg aacaccgacg cctaccgcca gtccaaggag aagaccgcct 3540
cgtacaccaa ggaggactgg cagcgcatcc aggacgaggc cgacgagctc accgggcgct 3600
tcgtcgccct gatggacgcg ggtgagcccg ccgactccga gggggcgatg gacgccgccg 3660
aggaccaccg gcagggcacg gcccgaacc actacgactg cgggtacgag atgcacacct 3720
gcctggggcg gatgtacgtg tccgacgaac gtttcacgcg aaacatcgac gccgccaagc 3780
cgggcctcgc cgctacatg cgcgacgca tcctcgccaa cgccgtccgg cacacccct 3840
gagcggtggt cgtggcccgg gtctcccgcc cgggtctacc ccacggctca ctccggggcc 3900
acgaccaccg ccgtcccgta cgcgcacacc tcggtgccc cgtccgccgc ctccgtcacg 3960
tcgaaacgga agatccccgg gtaccgagct cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc 4020
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 4080
aataaccctg ataatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 4140
tccgtgtcgc cttattccc ttttttgccg cattttgcct tcctgtttt gctcaccag 4200
aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg gggtacatcg 4260
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg cccgaagaa cgttttccaa 4320
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atccgtatt gacgccgggc 4380
aagagcaact cggctgccgc atacactatt ctcaaatga cttggttgag tactcaccag 4440
tcacagaaaa gcatttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 4500
ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 4560
taaccgcttt ttgacacaac atgggggatc atgtaactcg cttgatcgt tgggaaccgg 4620
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 4680
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 4740
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccattct gcgctcggcc cttccggctg 4800

gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag 4860
cactggggcc agatggtaag cctcccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 4920
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 4980
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tactttagat tgatttaaaa cttcattttt 5040
aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa atcccttaac 5100
gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 5160
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaaaaaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 5220
tggtttgttt gccgatcaa gagctacaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 5280
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 5340
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatacct gttaccagtg gctgctgcca 5400
gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 5460
agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 5520
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa 5580
aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 5640
caggggggaaa cgcctgggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 5700
gtcgattttt gtgatgctcg tcagggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 5760
cctttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 5820
cccctgattc tgtggataac cgtattaccg ctttgagtg agctgatacc gctcgccgca 5880
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 5940
aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac tagagtcccg 6000
ctgaggcggc gtagcaggtc agccgcccc gcggtggtca ccaaccgggg tggaacggcg 6060
ccggtatcgg gtgtgtccgt ggcgtcatt ccaacctcg tgtgtttgtg caggtttcgc 6120
gtgttgcaat ccctcgacc ggcacccgca gcgaggggct cacgggtgcc ggtgggtcga 6180
ctagttcagt gatggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 6240
cgtagaattc ccatggcgtg atggtgatgg tgatggccca tatgtatac tccttcttaa 6300
agttaaacia aattatttct agacgccgtc cacgtgcct cctcacgtga cgtgaggtgc 6360
aagcccggac gttccgcgtg ccacgccgtg agccgccgcg tgccgtcggc tccctcagcc 6420
cgggcccggc tgggagccc cctcgatatg tacaagcatg gggactcgcc gcggactagc 6480
ggcttcccga cacgccgtac tgaccagcag atcagcgata aacgctgttt ctgctgggta 6540

agtggataaa aaccaaataa tcgatgaacc tcgaagtgga gtatccgagc tgaactagct 6600
ggatttactc cgaaaatacg agcggcgacg aagggtgttg gaccaccctg ccgccgcctt 6660
cgaggctcct acttgactag gaccccgctc gttatgacca gcgtaagtgc tgaacacctt 6720
tccggcaaag accggccccc tgtcctcgtg tcgtccgata agcgcggcat ccggcacgaa 6780
cttcgacca aacttcaaca aatcaccacg tcagaaactt ttaatgcgtg cggccggccg 6840
atttcggcg tgaacggtgt gaccatcgtc aacggtcca aaggttccgg atttgaggc 6900
cttcgtcct gcggaaaggg ctggatctgc ccctgctgtg cgggaaaagt cggcgcat 6960
cgagcagacg aaatttctca agttgttct catcaactcg ggactggatc tgttgcgatg 7020
gtgaccatga ccatgcgcca taccgctggg cagcgtttgc atgatttgtg gactggactt 7080
tcggcagcct ggaaagctgc gaccaatggc cgccgatggc gtaccgaacg tgaaatgtac 7140
ggctgcgacg gatacgtacg agctgttgaa atcactcacg gaaaaaacgg ttggcacgtt 7200
cacgtccacg ctctactcat gttcagcggg gacgtgagtg agaacatcct cgaatccttc 7260
tcggatgcga tgttcgatcg gtggacctcc aaactcgtgt ctctgggatt tgctgcgcca 7320
ctacgtaatt caggtggact cgacgtaaga aagattggtg gagaagctga ccaagttctc 7380
gctgcatacc tgacgaaaat tgcattccggg gtcggcatgg aagtcggcag tggcgacgga 7440
aaaagtggtc ggcacggcaa ccgtgcacct tgggaaatcg ccgttgatgc agtcggagga 7500
gatccacaag cgttggaact ctggcgcgag tttgagttcg gttcgatggg acgccgagca 7560
atcgcatggt ctctgtggact gcgcgcccga gctggtcttg gcgtagaact cacggatgct 7620
cagattgtcg aacaggaaga atctgccccg gtcattggtg cgatcattcc ggctcggctc 7680
tggtgatga ttcggaactg tgcgccttac gttttcggag agatccttgg actcgtggaa 7740
gcgggcgcga cctgggaaaa ccttcgtgac cacttgcatc atcgattgcc tgcagcggat 7800
gtgcggcctc cgataatatc gattcgtaag tgaaatgtct tgggtgtcaa caactttcac 7860
tcgtatgaac cacattgag ggcattcccc cgatacttgc cgctttgaag ctgggtgtct 7920
ctctgtcagg gctgcgatag caccgcgtag cggcttggcc ttgacagaga gacggcctgt 7980
ttcatggttg gtctcggggg gctgaccggg cagatagaaa aaggccggcc gatttggtg 8040
ccgactatct ttgcaggtaa acccatctca tgagcatcaa tgaacgtccc gttggtatcg 8100
cagcgaatgc agcttcggta gacgtcgatg gcgttgtgat ggggtgtgat ctctcgcttt 8160
atgggcaaga aatcacgcta gatcgagatg atgcgttcct actcctcgat cgacttcagg 8220
acgcgttgcg acctcaagcc aactaagaac cctccagatg gtctaaacga ggcgcaaact 8280

cgctcctggg cctgcgggcg gagcaccgaa gcgcgagcga agcggagcgc gtaggtgggg 8340
gagcctgcgg gcagcggcgg cggagccgcc gccttggtaa taggtgatca tcggggccat 8400
agcaggtcag aggatgtttt tacgatgact catgctcacc acgccaagta ctgatg 8456

<210> 99

<211> 5984

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-QT1

<400> 99

gttaactaga gtaacgggct actccgttta acggaccccg ttctcacgct ttaggcttga 60
ccccggagcc tgcatggggc attccgccgt gaaccgggtg gaatgcccc ggcacccggg 120
ctttccagca aagatcacct ggcgcgatg agtaaggcgt acagaaccac tccacaggag 180
gaccgtcgag atgaaatcta acaatgcgct catcgatc ctcggcaccg tcaccctgga 240
tgctgtaggc ataggcttgg ttatgccggt actgccgggc ctcttgcggg atatcgtcca 300
ttccgacagc atgccagtc actatggcgt gctgctagcg ctatatgcgt tgatgcaatt 360
tctatgcgca cccgttctcg gagcactgtc cgaccgcttt ggccgccgcc cagtcctgct 420
cgcttcgcta cttggagcca ctatcgacta cgcgatcatg gcgaccacac ccgtcctgtg 480
gattctctac gccggacgca tcgtggccgg catcaccggc gccacagggt cggttgcttg 540
cgcttatatc gccgacatca ccgatgggga agatcgggct cgccacttcg ggctcatgag 600
cgcttggtttc ggcgtgggta tgggtggcagg ccccgtagcc gggggactgt tgggcgccat 660
ctccttgcat gcaccattcc ttgcggcggc ggtgctcaac ggcctcaacc tactactggg 720
ctgcttccta atgcaggagt cgcataaggg agagcgtcgt ccgatgccct tgagagcctt 780
caaccagtc agtccttcc ggtgggcgcg gggcatgact atcgtcgccg cacttatgac 840
tgtcttctt atcatgcaac tcgtaggaca ggtgccggca gcgctctggg tcattttcgg 900

cgaggaccgc tttcgctgga gcgcgacgat gatcggcctg tcgcttgccg tattcggaat 960
cttgcacgcc ctcgctcaag ccttcgtcac tggccccgcc accaaacgtt tcggcgagaa 1020
gcaggccatt atcgccggca tggcggccga cgcgctgggc tacgtcttgc tggcgttcgc 1080
gacgcgaggc tggatggcct tccccattat gattcttctc gcttcggcg gcatcgggat 1140
gccccggttg caggccatgc tgtccaggca ggtagatgac gaccatcagg gacagcttca 1200
aggatcgctc gcggctctta ccagcctaac ttcgatcatt ggaccgctga tcgtcacggc 1260
gatttatgcc gcctcggcga gcacatggaa cgggttggca tggattgtag gcgccgccct 1320
ataccttgtc tgctccccg cgttgcgctc cgggtgatgg agccgggcca cctcgacctg 1380
aatggaagcc ggcggcacct cgctaacgga ttcaccactc caagaattgg agccaatcaa 1440
ttcttgcgga gaactgtgaa tgcgcaaacc aacccttggc agaacatata catcgcgctc 1500
gccatctcca gcagccgcac gcggcgcata tcgggcagcg ttgggtcctg gccacgggtg 1560
cgcatgatcg tgctcctgtc gttgaggtac cgagctcgtc aggtggcact tttcggggaa 1620
atgtgcgcg aaccctatt tgtttatitt tctaaataca ttcaaataatg tatccgctca 1680
tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 1740
aacatttccg tgcgccttt attcccttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgc 1800
accagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt 1860
acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt 1920
ttccaatgat gagcactttt aaagtctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg 1980
ccgggcaaga gcaactcggc cgccgcatac actatttctc gaatgacttg gttgagtact 2040
caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgtg 2100
ccataacat gagtataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga 2160
aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgctt gatcgttggg 2220
aaccggagct gaatgaagcc ataccaaagc acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa 2280
tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac 2340
aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc 2400
cggctggctg gtttattgct gataaatctg gagccgtga gcgtgggtct cgcggtatca 2460
ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga 2520
gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gatagggtgcc tcaactgatta 2580
agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc 2640

atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc 2700
cttaacgtga gttttcgttc cactgagcgt cagaccccggt agaaaagatc aaaggatctt 2760
cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac 2820
cagcgggtggt ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct 2880
tcagcagagc gcagatacca aatactgttc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact 2940
tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg 3000
ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg gggttgactc aagacgatag ttaccggata 3060
aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga 3120
cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag 3180
ggagaaaggc ggacaggtat ccgtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg 3240
agcttccagg gggaaacgcc tggtatcttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac 3300
ttgagcgtcg atttttga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca 3360
acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg 3420
cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc 3480
gccgcagccg aacgaccgag cgcagcgagt cagtgaagca ggaagcggaa gagcgcccaa 3540
tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcagctgg cacgactaga 3600
gtcccgtga ggccggcgtg caggtcagcc gcccagcgg ttggtaccaa ccgggggtgga 3660
acggcgccgg tatcgggtgt gtccgtggcg ctattccaa cctccgtgtg tttgtgcagg 3720
tttcgcgtgt tgcagtcct cgcaccggca cccgcagca ggggctcacg ggtgccggtg 3780
ggtcgactag ttcagtgatg gtgatgggtg tgctcgagag atctaagctt ggatccgcgg 3840
ccgctacgta gaattcccat atgggtgatg tgatgggtggc ccatggtata tctccttctt 3900
aaagttaaac aaaattattt ctagacgccg tccattatac ctctcacgt gacgtgaggt 3960
gcaagcccgg acgttccgcg tgccacgccg tgagccgccg cgtgccgtcg gctccctcag 4020
cccgggcccgc cgtgggagcc cgcctcgata tgtacaccgc agaagctccc agcgtcctcc 4080
tgggcccgcga tactcgacca ccacgcacgc acaccgact aacgattcgg ccggcgctcg 4140
attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat tcggccggcg 4200
ctcgattcgg ccgagcagaa gagtgaacaa ccaccgacca cgcttccgct ctgcgcgccg 4260
taccgacct acctccgca gctcgaagca gctcccggga gtaccgccgt actacccgc 4320
ctgtgctcac catccaccga cgcaaagccc aaccgagca cacctcttgc accaaggtgc 4380

cgaccgtggc tttccgctcg cagggttcca gaagaaatcg aacgatccag cgcggcaagg 4440
ttcaaaaagc aggggttggg ggggaggagg ttttgggggg tgctgccggg atacctgata 4500
tggctttgtt ttgcgtagtc gaataatitt ccatatagcc tcggcgcgtc ggactcgaat 4560
agttgatgtg ggcgggcaca gttgccccat gaaatccgca acggggggcg tgctgagcga 4620
tcggcaatgg gcggatgcgg tgttgcttcc gcaccggccg ttcgcgacga acaacctcca 4680
acgaggtcag taccggatga gccgcgacga cgcattggca atgcggtacg tcgagcattc 4740
accgcacgcg ttgctcggat ctatcgtcat cgactgcgat cacgttgacg ccgcgatgcg 4800
cgatttcgag caaccatccg accatccggc gccgaactgg gtcgcacaat cgccgtccgg 4860
ccgcgcacac atcggatggg ggctcggccc caaccacgtg tgccgcaccg acagcgcccg 4920
actgacgcca ctgcgctacg cccaccgcat cgaaaccggc ctcaagatca gcgtcggcgg 4980
cgatttcgcg tatggcgggc aactgaccaa aaacccgatt caccgccatt gggagacgat 5040
ctacggcccg gccaccccggt acacattgcg gcagctggcc accatccaca caccgccgca 5100
gatgccgcgt cggcccgatc gggccgtggg cctgggcccgc aacgtcacca tgttcgacgc 5160
caccgccgca tgggcatacc cgcagtgggtg gcaacaccga aacggaaccg gccgcgactg 5220
ggaccatctc gtctgcagc actgccacgc cgtcaacacc gagttcacga caccactgcc 5280
gttcaccgaa gtacgcgcca ccgcgcaatc catctccaaa tggatctggc gcaatttcac 5340
cgaagaacag taccgagccc gacaagcgca tctcgggtcaa aaaggcggca aggcaacgac 5400
actcgccaaa caagaagccg tccgaaacaa tgcaagaaag tacgacgaac atacgatgcg 5460
agaggcgatt atctgatggg cggagccaaa aatccggtgc gccgaaagat gacggcagca 5520
gcagcagccg aaaaattcgg tgcctccact cgcacaatcc aacgcttggt tgctgagccg 5580
cgtgacgatt acctcggccg tgcgaaagct cgccgtgaca aagctgtcga gctgcggaag 5640
caggggttga agtaccggga aatcgccgaa gcgatggaac tctcgaccgg gatcgtcggc 5700
cgattactgc acgacgcccg caggcacggc gagatttcag cggaggatct gtcggcgtaa 5760
ccaagtcagc gggttgtcgg gttccggccg gcgctcggca ctcggaccgg ccggcggatg 5820
gtgttctgcc tctggcgag cgctcagctac cgccgaaggc ctgtcatcga ccggcttcga 5880
ctgaagtatg agcaacgtca cagcctgtga ttggatgatc cgctcacgct cgaccgctac 5940
ctgttcagct gccgcccgt gggcatgagc aacggccaac tctc 5984

<210> 100

<211> 5988

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-QT2

<400> 100

gttaactaga gtaacgggct actccgttta acggaccccg ttctcacgct ttaggcttga 60
ccccggagcc tgcattggggc attccgccgt gaacccgggtg gaatgcccc ggcacccggg 120
ctttccagca aagatcacct ggcgccgatg agtaaggcgt acagaaccac tccacaggag 180
gaccgtcgag atgaaatcta acaatgcgct catcgatcatc ctccggcaccg tcaccctgga 240
tgctgtaggc ataggcttgg ttatgccggt actgccgggc ctcttgccggg atatcgatcca 300
ttccgacagc atcgccagtc actatggcgt gctgctagcg ctatatgcgt tgatgcaatt 360
tctatgcgca ccgcttctcg gagcactgtc cgaccgcttt ggccgcccgc cagtcctgtg 420
cgcttcgcta cttggagcca ctatcgacta cgcgatcatg gcgaccacac ccgtcctgtg 480
gattctctac gccggacgca tcgtggccgg catcaccggc gccacagggtg cggttgctgg 540
cgcttatatc gccgacatca ccgatgggga agatcgggct cgccacttcg ggctcatgag 600
cgcttgcttc ggctgaggta tgggtggcagg cccgctggcc ggggggactgt tgggcgcat 660
ctccttgcat gcaccattcc ttgcggcggc ggtgctcaac ggccctcaacc tactactggg 720
ctgcttccta atgcaggagt cgcataaggg agagcgtcgt ccgatgccct tgagagcctt 780
caaccagtc agctccttcc ggtgggcgcg gggcatgact atcgtcgccg cacttatgac 840
tgtcttcttt atcatgcaac tcgtaggaca ggtgccggca gcgctctggg tcattttcgg 900
cgaggaccgc tttcgctgga gcgcgacgat gatcggcctg tcgcttgccg tattcggaat 960
cttgccagcc ctgcgtcaag ccttcgtcac tgggtcccgc accaaacgtt tcggcgagaa 1020
gcaggccatt atcgccggca tggcggccga cgcgctgggc tacgtcttgc tggcgcttgc 1080
gacgcgaggc tggatggcct tccccattat gattcttctc gcttcggcg gcatcgggat 1140
gcccgcgttg caggccatgc tgtccaggca ggtagatgac gaccatcagg gacagcttca 1200

aggatcgctc gcggctctta ccagcctaac ttcgatcatt ggaccgctga tcgtcacggc 1260
gatttatgcc gcctcggcga gcacatggaa cgggttggca tggattgtag gcgccgccct 1320
ataccttgtc tgcctccccg cgttgcgtcg cggatcatgg agccggggcca cctcgacctg 1380
aatggaagcc ggcggcacct cgctaacgga ttcaccactc caagaattgg agccaatcaa 1440
ttcttgcgga gaactgtgaa tgcgcaaacc aacccttggc agaacatata catcgcgctc 1500
gccatctcca gcagccgcac gcggcgcatac tcgggcagcg ttgggtcctg gccacgggtg 1560
cgcatgatcg tgctcctgtc gttgaggtac cgagctcgtc aggtggcact tttcggggaa 1620
atgtgcgagg aacccttatt tgtttatatt tctaaatata ttcaaataatg tatccgctca 1680
tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 1740
aacatttccg tgcgcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc 1800
accagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt 1860
acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt 1920
ttcaatgat gagcactttt aaagtctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg 1980
ccgggcaaga gcaactcggg cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact 2040
caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgtg 2100
ccataacat gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgata ggaggaccga 2160
aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgctt gatcgttggg 2220
aaccggagct gaatgaagcc ataccaaagc acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa 2280
tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac 2340
aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc 2400
cggctggctg gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca 2460
ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga 2520
gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcaactgatta 2580
agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc 2640
atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc 2700
cttaacgtga gttttcgctt cactgagcgt cagaccccg agaaaagatc aaaggatctt 2760
cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaaa ccaccgctac 2820
cagcgtgggt ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttcgaag gtaactggct 2880
tcagcagagc gcagatacca aatactgttc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact 2940

tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg 3000
ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata 3060
aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga 3120
cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag 3180
ggagaaaggc ggacaggtat ccggttaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg 3240
agcttccagg gggaaacgcc tggatatctt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac 3300
ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca 3360
acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttttttctg 3420
cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgagct gataccgctc 3480
gccgcagccg aacgaccgag cgcagcgagt cagtgagcga ggaagcggaa gagcgcccaa 3540
tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcagctgg cacgactaga 3600
gtcccgtga ggcggcgtag caggtcagcc gccccagcgg tggtcaccaa ccgggggtgga 3660
acggcgccgg tatcgggtgt gtccgtggcg ctcatccaa cctccgtgtg tttgtgcagg 3720
tttcgcgtgt tgcagtccct cgcaccggca cccgcagcga ggggctcacg ggtgccggtg 3780
ggtcgactag ttcagtgatg gtgatggtga tgctcgagag atctaagctt ggatccgcgg 3840
ccgctacgta gaattcccat ggcgtgatgg tgatggtgat ggcccatatg tatatctcct 3900
tcttaaagtt aaacaaaatt atttctagac gccgtccatt atacctctc acgtgacgtg 3960
aggtgcaagc ccggacgttc cgcgtgccac gccgtgagcc gccgcgtgcc gtcggctccc 4020
tcagcccggg cggccgtggg agcccgctc gatatgtaca cccgagaagc tcccagcgtc 4080
ctcctgggcc gcgatactcg accaccacgc acgcacaccg cactaacgat tcggccggcg 4140
ctcgattcgg ccggcgctcg attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc 4200
ggcgctcgat tcggccgagc agaagagtga acaaccaccg accacgcttc cgctctgcgc 4260
gccgtaccg acctacctc cgcagctcga agcagctccc gggagtaccg ccgtactcac 4320
ccgcctgtgc tcaccatcca ccgacgcaa gcccaaccg agcacacctc ttgaccaag 4380
gtgccgaccg tggctttccg ctgcgagggt tccagaagaa atcgaacgat ccagcgcggc 4440
aaggttcaaa aagcaggggt tgggtggggag gaggttttgg ggggtgtcgc cgggatacct 4500
gatatggctt tgttttgcgt agtcgaataa ttttccatat agcctcggcg cgtcggactc 4560
gaatagttga tgtgggcggg cacagttgcc ccatgaaatc cgcaacgggg ggcgtgctga 4620
gcgatcggca atgggcggat gcggtgttgc ttccgcaccg gccgttcgcg acgaacaacc 4680

tccaacgagg tcagtaccgg atgagccgcg acgacgcatt ggcaatgcgg tacgtcgagc 4740
attcaccgca cgcgttgctc ggatctatcg tcatcgactg cgatcacgtt gacgccgcga 4800
tgcgcgcatt cgagcaacca tccgaccatc cggcgccgaa ctgggtcgca caatcgccgt 4860
ccggccgcgc acacatcgga tgggtggctcg gcccacaacca cgtgtgccgc accgacagcg 4920
cccgactgac gccactgcgc tacgcccacc gcatcgaaac cggcctcaag atcagcgctc 4980
gcggcgattt cgcgtatggc gggcaactga ccaaaaaccc gattcacccc gattgggaga 5040
cgatctacgg cccggccacc ccgtacacat tgcggcagct ggccaccatc cacacacccc 5100
ggcagatgcc gcgtcggccc gatcggggccg tgggcctggg ccgcaacgtc accatgttcg 5160
acgccacccg gcgatgggca taccgcagct ggtggcaaca ccgaaacgga accggccgcg 5220
actgggacca tctcgtcctg cagcactgcc acgccgtcaa caccgagttc acgacaccac 5280
tgccgttcac cgaagtacgc gccaccgcgc aatccatctc caaatggatc tggcgcaatt 5340
tcaccgaaga acagtaccga gcccgaacg cgcatctcgg tcaaaaaggc ggcaaggcaa 5400
cgacactcgc caaacaagaa gccgtccgaa acaatgcaag aaagtacgac gaacatacga 5460
tgcgagaggc gattatctga tgggcggagc caaaaatccg gtgcgccgaa agatgacggc 5520
agcagcagca gccgaaaaat tcggtgcctc cactcgcaca atccaacgtt tgtttgctga 5580
gccgcgtgac gattacctcg gccgtgcgaa agctcgccgt gacaaagctg tcgagctcgc 5640
gaagcagggg ttgaagtacc gggaaatcgc cgaagcgatg gaactctcga ccgggatcgt 5700
cggccgatta ctgcacgacg cccgcaggca cggcgagatt tcagcggagg atctgtcggc 5760
gtaaccaagt cagcgggttg tcgggttccg gccggcgctc ggcaactcgga ccggccggcg 5820
gatggtgttc tgcctctggc gcagcgtcag ctaccgccga aggcctgtca tcgaccggct 5880
tcgactgaag tatgagcaac gtcacagcct gtgattggat gatcgcgtca cgctcgaccg 5940
ctacctgttc agctgccgcc cgctgggcat gagcaacggc caactctc 5988

<210> 101

<211> 6058

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-RT1

<400> 101

gttaactaga gtaacgggct actccgttta acggaccccg ttctcacgct ttaggcttga 60
ccccggagcc tgcattggggc attccgccgt gaacccgggtg gaatgcccc ggcacccggg 120
ctttccagca aagatcacct ggccgccgat agtaaggcgt acagaaccac tccacaggag 180
gaccgtcgag atgaaatcta acaatgcgt catcgtcatc ctgggcaccg tcacctgga 240
tgctgtaggc ataggcttgg ttatgccggt actgccgggc ctcttgctggg atatcgtcca 300
ttccgacagc atcgccagtc actatggcgt gctgctagcg ctatatgctg tgatgcaatt 360
tctatgcgca cccgttctcg gagcactgtc cgaccgcttt ggccgccgcc cagtctgtct 420
cgcttcgcta cttggagcca ctatcgacta cgcgatcatg gcgaccacac ccgtcctgtg 480
gattctctac gccggacgca tcgtggccgg catcaccggc gccacagggt cggttgcttg 540
cgcctatatc gccgacatca ccgatgggga agatcgggct cgccacttcg ggctcatgag 600
cgcttgcttc ggccgtgggta tgggtggcagg ccccgctggc gggggactgt tgggcgccat 660
ctccttgcat gcaccattcc ttgcggcggc ggtgctcaac ggcctcaacc tactactggg 720
ctgcttccta atgcaggagt cgcataaggg agagcgtcgt ccgatgccct tgagagcctt 780
caaccagtc agctccttcc ggtgggcgcg gggcatgact atcgtcgccg cacttatgac 840
tgtcttcttt atcatgcaac tcgtaggaca ggtgccggca gcgctctggg tcattttcgg 900
cgaggaccgc tttcgttgga gcgcgacgat gatcggcctg tcgcttgccg tattcgggaat 960
cttgacgccc ctgctcaag ccttcgtcac tgggtccgcc accaaacgtt tcggcgagaa 1020
gcaggccatt atcgccggca tggcggccga cgcgtgggc tacgtcttgc tggcgcttgc 1080
gacgcgaggc tggatggcct tccccattat gattcttctc gcttcggcg gcacgggat 1140
gcccgcgttg caggccatgc tgtccaggca ggtagatgac gaccatcagg gacagcttca 1200
aggatcgctc gcggctctta ccagcctaac ttgatcatt ggaccgctga tcgtcacggc 1260
gatttatgcc gcctcggcga gcacatggaa cgggttggca tggattgtag gcgccgccct 1320
ataccttgtc tgcctccccg cgttgcgtcg cgggtgatgg agccgggcca cctcgacctg 1380
aatggaagcc ggcggcacct cgctaacgga ttaccactc caagaattgg agccaatcaa 1440
ttcttgcgga gaactgtgaa tgcgcaaacc aacccttggc agaacatatc catcgcttcc 1500

gccatctcca gcagccgcac gcggcgcac tcgggcagcg ttgggtcctg gccacgggtg 1560
cgcatgatcg tgctcctgtc gttgaggtag cgagctcgtc aggtggcact tttcggggaa 1620
atgtgcgcgg aacccttatt tgtttatatt tctaaataca ttcaaatacg tatccgctca 1680
tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 1740
aacatttccg tgctgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc 1800
accagaaac gctgggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt 1860
acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt 1920
ttccaatgat gaggactttt aaagtctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg 1980
ccgggcaaga gcaactcggc cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact 2040
caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgtcg 2100
ccataaccat gaggatgatac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga 2160
aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcggtggg 2220
aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa 2280
tggcaacaac gttgcgcaaa ctattactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac 2340
aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc 2400
cggctggctg gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca 2460
ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga 2520
gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgtga gatagggtgcc tctactgatta 2580
agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc 2640
atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc 2700
cttaacgtga gttttcgttc cactgagcgt cagaccccggt agaaaagatc aaaggatctt 2760
cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac 2820
cagcgggtgg ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct tttccgaag gtaactggct 2880
tcagcagagc gcagatacca aatactgttc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact 2940
tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg 3000
ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttggtact aagacgatag ttaccggata 3060
aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga 3120
cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag 3180
ggagaaaggc ggacaggtat ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgacagagg 3240

agcttccagg gggaaacgcc tggatatctt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac 3300
ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca 3360
acgcggcctt ttacggttc ctggccttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg 3420
cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgaagt gataccgctc 3480
gccgcagccg aacgaccgag cgcagcgagt cagtgaagca ggaagcggaa gagcgcccaa 3540
tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcagctgg cagcactaga 3600
gtcccgctga ggcggcgtag caggtcagcc gcccagcgg tggtcaccaa ccgggggtgga 3660
acggcgccgg tatcgggtgt gtccgtggcg ctcatccaa cctccgtgtg tttgtgcagg 3720
tttcgcgtgt tgcagtcct cgcaccggca cccgcagcga ggggctcacg ggtgccggtg 3780
ggtcgactag ttcagtgatg gtgatggtga tgctcgagag atctaagctt ggatccgcgg 3840
ccgtacgta gaattcccat atggtgatgg tgatgggtggc ccatgggtata tctccttctt 3900
aaagttaaac aaaattattt ctagacgccg tccattatac ctctcacgt gacgtgaggt 3960
gcaagcccgg acgttcgcg tgccacgccg tgagccgccg cgtgccgtcg gctccctcag 4020
cccgggcggc cgtgggagcc cgcctcgata tgtacaagca tggggactcg ccgcggacta 4080
gcggcttccc gacacgccgt actgaccagc agatcagcga taaacgctgt ttctgctggt 4140
taagtggata aaaaccaa atcgaatgaa cctcgaagtg gagtaiccg gctgaactag 4200
ctggatttac tccgaaaata cgagcggcga cgaagggtgt tggaccaccc tgccgccgcc 4260
ttcaggctc ctacttgact aggacccgc tcgttatgac cagcgtaagt gctgaacacc 4320
tttcggcaa agaccggccc cctgtcctcg tgctgtccga taagcgcggc atccggcacg 4380
aacttcgacc caaacttcaa caaatcacca cgtcagaaac ttttaatgcg tgcggccggc 4440
cgatttcgg cgtgaacggt gtgaccatcg tcaacggctc caaagggtcc ggatttgag 4500
gccttcgctc ctgcggaaag ggctggatct gccctgctg tgcgggaaaa gtcggcgcac 4560
atcgagcaga cgaaatttct caagtgttg ctcatcaact cgggactgga tctgttgca 4620
tggtgaccat gaccatgcgc cataccgtg ggcagcgtt gcatgattg tggactggac 4680
tttcggcagc ctggaagct gcgaccaatg gccgccgatg gcgtaccgaa cgtgaaatgt 4740
acggctgcga cggatacgta cgagctgttg aaatcactca cggaacaaac ggttggcacg 4800
ttcacgtcca cgctctactc atgttcagcg gtgacgtgag tgagaacatc ctccaatcct 4860
tctcgatgc gatgttcgat cgggtggacct ccaaactcgt gtctctggga tttgctgcgc 4920
cactacgtaa ttcaggtgga ctgcagtaa gaaagattg tggagaagct gaccaagttc 4980

tcgctgcata cctgacgaaa attgcatccg gggctcgcat ggaagtcggc agtggcgacg 5040
gaaaaagtgg tcggcacggc aaccgtgcac cttgggaaat cgccgttgat gcagtcggag 5100
gagatccaca agcgttgga cttctggcgcg agtttgagtt cggttcgatg ggacgccgag 5160
caatcgcatg gtctcgtgga ctgcgcgccc gagctggctt tggcgtagaa ctcacggatg 5220
ctcagattgt cgaacaggaa gaatctgccc cggctcatggt tgcgatcatt ccggctcgg 5280
cctggatgat gattcggaa tgtgcgcctt acgttttcgg agagatcctt ggactcgtgg 5340
aagcgggccc gacctgggaa aaccttcgtg accacttgca ttatcgattg cctgcagcgg 5400
atgtgcggcc tccgataata tcgattcgta agtgaaatgt cttggtgtgc aacaactttc 5460
actcgtatga accacacttg agggcatccc cccgatactt gccgctttga agctgggtgt 5520
ctctctgtca gggctgcgat agcaccgcgt agcggcttgg ccttgacaga gagacggcct 5580
gtttcatggt tggctcggg gggctgaccg ggcagataga aaaaggccgg ccgatttggc 5640
tgccgactat ttttgagggt aaacccatct catgagcatc aatgaacgtc ccgttggtat 5700
cgcagcgaat gcagcttcgg tagacgtcga tggcgttgtg atgggtgtgt atctctcgct 5760
ttatgggcaa gaaatcacgc tagatcgaga tgatgcgttc ctactcctcg atcgacttca 5820
ggacgcgttg cgacctcaag ccaactaaga accctccaga tggctctaac gaggcgcaaa 5880
ctcgtcctg ggcctgcggg cggagcaccg aagcgcgagc gaagcggagc gcgtaggtgg 5940
gggagcctgc gggcagcggc ggcggagccg ccgccttgggt aataggtgat catcggggcc 6000
atagcaggtc agaggatgtt ttacgatga ctcatgctca ccacgccaag tactgatg 6058

<210> 102

<211> 6062

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-RT2

<400> 102

gttaactaga gtaacgggct actccgttta acggaccccg ttctcacgct ttaggcttga 60
ccccggagcc tgcattggggc attccgccgt gaaccgggtg gaatgcccc ggcacccggg 120
ctttccagca aagatcacct ggccgccgatg agtaaggcgt acagaaccac tccacaggag 180
gaccgtcgag atgaaatcta acaatgcgct catcgatcat ctcggcaccg tcaccctgga 240
tgctgtaggc ataggcttgg ttatgccggt actgccgggc ctcttgccggg atatcgatcca 300
ttccgacagc atcgccagtc actatggcgt gctgctagcg ctatatgcgt tgatgcaatt 360
tctatgcgca cccgttctcg gagcactgtc cgaccgcttt ggccgccgcc cagtcctgct 420
cgcttcgcta cttggagcca ctatgacta cgcgatcatg gcgaccacac ccgtcctgtg 480
gattctctac gccggacgca tcgtggccgg catcaccggc gccacagggt cggttgctgg 540
cgcctatatc gccgacatca ccgatgggga agatcgggct cgccacttcg ggctcatgag 600
cgcttgcttc ggctgggta tggtagcagg ccccgtaggc gggggactgt tgggcgccat 660
ctccttgcat gcaccattcc ttgcggcggc ggtgctcaac ggctcaacc tactactggg 720
ctgcttccta atgcaggagt cgcataaggg agagcgtcgt ccgatgccct tgagagcctt 780
caaccagtc agtccttcc ggtgggcgcg gggcatgact atcgtcgccg cacttatgac 840
tgtcttctt atcatgcaac tcgtaggaca ggtgccggca gcgctctggg tcattttcgg 900
cgaggaccgc ttctgctgga gcgcgacgat gatcggcctg tcgcttgccg tattcggaat 960
cttgacgcc ctcgctcaag cttcgtcac tgggtccgcc accaaacgtt tcggcgagaa 1020
gcaggccatt atcgccggca tggcgccga cgcgctgggc tacgtcttgc tggcgctcgc 1080
gacgcgaggc tggatggcct tccccattat gattcttctc gcttccggcg gcatcgggat 1140
gcccgcgttg caggccatgc tgtccaggca ggtagatgac gaccatcagg gacagcttca 1200
aggatcgctc gcggctctta ccagcctaac ttgatcatt ggaccgctga tcgtcacggc 1260
gatttatgcc gcctcggcga gcacatggaa cgggttggca tggattgtag gcgccgccct 1320
ataccttgct tgctccccg cgttgctcgc cggatgatgg agccgggcca cctcgacctg 1380
aatggaagcc ggccggcacct cgctaacgga ttaccactc caagaattgg agccaatcaa 1440
ttcttgccga gaactgtgaa tgcgcaaac aacccttggc agaacatct catcgctcc 1500
gccatctcca gcagccgcac gcggcgcatc tcgggcagcg ttgggtcctg gccacgggtg 1560
cgcatgatcg tgctcctgtc gttgaggtag cgagctcgtc aggtggcact ttccggggaa 1620
atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatctt tctaaataca ttcaaataatg tatccgctca 1680
tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 1740

aacattttccg tgtcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc 1800
accagaaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt 1860
acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt 1920
ttccaatgat gagcactttt aaagtcttgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg 1980
ccgggcaaga gcaactcggg cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact 2040
caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgtctg 2100
ccataacatc gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgacg ggaggaccga 2160
aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg 2220
aaccggagct gaatgaagcc ataccaaagc acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa 2280
tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac 2340
aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc 2400
cggctggctg gtttattgct gataaatctg gagccgggtga gcgtgggtct cgcggtatca 2460
ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga 2520
gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcaactgatta 2580
agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc 2640
atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc 2700
cttaacgtga gttttcgctt cactgagcgt cagaccccggt agaaaagatc aaaggatctt 2760
cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaaa ccaccgtac 2820
cagcgggtggg ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct 2880
tcagcagagc gcagatacca aatactgttc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact 2940
tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg 3000
ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata 3060
aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt cgtgcacaca gcccagcttg gagcgaacga 3120
cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag 3180
ggagaaaggc ggacaggat cccgtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg 3240
agcttccagg gggaaacgcc tggatctttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac 3300
ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca 3360
acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg 3420
cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagttagct gataccgctc 3480

gccgcagccg aacgaccgag cgcagcgagt cagtgcgca ggaagcggaa gagcgcccaa 3540
tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcagctgg cacgactaga 3600
gtccccgtga ggcggcgtag caggtcagcc gccccagcgg tggtcaccaa ccgggggtgga 3660
acggcgccgg tatcgggtgt gtccgtggcg ctcatccaa cctccgtgtg tttgtgcagg 3720
tttcgcgtgt tgcagtcctt cgcaccggca cccgcagcga ggggctcacg ggtgccggtg 3780
ggtcgactag ttcagtgatg gtgatggta tgctcgagag atctaagctt ggatccgcgg 3840
ccgctacgta gaattcccat ggctgatgg tgatgggat ggcccatatg tatactcctt 3900
tcttaaagtt aaacaaaatt atttctagac gccgtccatt atacctcctc acgtgacgtg 3960
aggtgcaagc ccggacgttc cgcgtgccac gccgtgagcc gccgcgtgcc gtcggctccc 4020
tcagcccggg cggccgtggg agccgcctc gatatgtaca agcatgggga ctgccgcgg 4080
actagcggct tcccgacacg ccgtactgac cagcagatca gcgataaacg ctgtttctgc 4140
tggttaagtg gataaaaacc aaataatcga tgaacctcga agtggagtat ccgagctgaa 4200
ctagctggat ttactccgaa aatacagcg gcgacgaagg gtgttgacc accctgccgc 4260
cgccttcgag gctcctactt gactaggacc ccgtcgtta tgaccagcgt aagtgtgaa 4320
cacctttccg gcaaagaccg gccccctgtc ctctgtctgt ccgataagcg cggcatccgg 4380
cacgaacttc gacccaaact tcaacaaatc accacgtcag aaacttttaa tgcgtgcggc 4440
cggccgattt ccggcgtgaa cgggtgtgacc atcgtcaacg gtcccaaagg ttccggattt 4500
ggaggccttc gctcctgcgg aaagggtgg atctgccctt gctgtgcggg aaaagtcggc 4560
gcacatcgag cagacgaaat ttctcaagtt gttgctcatc aactcgggac tggatctgtt 4620
gcgatggtga ccatgaccat gcgccatacc gctgggcagc gtttgcata tttgtggact 4680
ggactttcgg cagcctggaa agctgcgacc aatggccgcc gatggcgta cgaacgtgaa 4740
atgtacggct gcgacggata cgtacgagct gttgaaatca ctacaggaaa aaacggttgg 4800
cacgttcacg tccacgtctt actcatgtt agcggtgacg tgagtgagaa catcctcgaa 4860
tccttctcgg atgcgatgtt cgatcgggtg acctccaaac tcgtgtctct gggatttgct 4920
gcgccactac gtaattcagg tggactcgac gtaagaaaga ttggtggaga agctgaccaa 4980
gttctcgtg catacctgac gaaaattgca tccggggtcg gcatggaagt cggcagtggc 5040
gacggaaaaa gtggtcggca cggcaaccgt gcaccttggg aaatcgccgt tgatgcagtc 5100
ggaggagatc cacaagcgtt ggaactctgg cgcgagttt agttcggttc gatgggacgc 5160
cgagcaatcg catggtctcg tggactgcgc gcccgagctg gtcttggcgt agaactcacg 5220

gatgctcaga ttgtcgaaca ggaagaatct gccccgtca tggttgcgat cattccggct 5280
cggctcctgga tgatgattcg gaactgtgcg ccttacgttt tcggagagat ccttggactc 5340
gtggaagcgg gcgcgacctg ggaaaacctt cgtgaccact tgcattatcg attgcctgca 5400
gcggatgtgc ggcctccgat aatatcgatt cgtaagtga atgtcttgggt gtgcaacaac 5460
tttactcgt atgaaccaca cttgagggca tcccccgat acttgccgct ttgaagctgg 5520
gtgtctctct gtcagggtcg cgatagcacc gcgtagcggc ttggccttga cagagagacg 5580
gcctgtttca tggttggtct cggggggctg accgggcaga tagaaaaagg ccggccgatt 5640
tggctgccga ctatTTTTgc aggtaaaccc atctcatgag catcaatgaa cgtcccgttg 5700
gtatcgcagc gaatgcagct tcggtagacg tcgatggcgt tgtgatgggt gtgtatctct 5760
cgctttatgg gcaagaaatc acgctagatc gagatgatgc gttcctactc ctcgatcgac 5820
ttcaggacgc gttgcgacct caagccaact aagaaccctc cagatggtct aaacgaggcg 5880
caaactcgct cctgggcctg cgggcgggagc accgaagcgc gagcgaagcg gagcgcgtag 5940
gtgggggagc ctgcgggcag cggcggcgga gccgccgcct tggtaatagg tgatcatcgg 6000
ggccatagca ggtcagagga tgTTTTtacg atgactcatg ctcaccacgc caagtactga 6060
tg . 6062

<210> 103

<211> 6153

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-QC1

<400> 103

gttaacgcat ccgaaacctc caccacctc acctagtccg acatccgtac cttggaaacc 60
gacctgtatt ggcatttcag ttggacatcg accagtggcg ttgctagggt caagaccatg 120
tccagcccga aggcgccag actctagcca ccggaggtag tccggtggcc acatcccgtc 180

gcgcccgaac gtcacgtctt tgtgtggcct tcccttgttg tttgcgatca gtggcacacc 240
tctaccgtct gaatttcgag tctggcctcg gctgcgcaca tctcgactg tgacgtgtc 300
aggtcacccg cttcgcggct accagttcct ttcattgaat cgagcttccg gtgccgccgc 360
gcagcctccc tgaccatcct cagattttat ggagtctcgc agtgcctttc gctatctacg 420
tcctcgggct tgctgtcttc gccaggggca catccgagtt catgttgtcc ggactcatac 480
cggacatggc ccgtgacctc ggggtttcgg tccccgccgc cggactcctc acctccgcct 540
tcgcggtcgg gatgatcatc ggcgctccgt tgatggctat cgccagcatg cgggtggcccc 600
ggcgacgcgc cttctgaca ttcctcatca cgttcatgct ggtccacgtc atcggcgcgc 660
tcaccagcag cttcgaggtc ttgctggta cacgcacgtt gggagccctc gccaatgccg 720
gattcttggc agtggccctg ggggcggcga tggcgatggt gcccgccgac atgaaagggc 780
gcgccacgtc cgtcctctc ggcggtgtca cgatcgcatg ttagccggt gttcccgggg 840
gcgccttctt gggtgaaatg tggggctggc gtgcagcgtt ctgggctgtc gtcgtcatct 900
ccgcccctgc agtgggtggc attatgttcg ccaccccggc cgagccgctt gcagagtcca 960
caccgaatgc caagcgtgaa ctgtcctcac tgcgtcacg caagctccag ctcatgcttg 1020
tcctcggggc gctgatcaac ggcgcaacgt tctgttcgtt cacgtacatg gcgcccacgc 1080
tcaccgacat ctccggtttc gactcccgtt ggattccgtt gctgctgggg ctgttcgggc 1140
tcggatcgtt catcggtgtc agcgtcggag gcaggctcgc cgacacccgg ccgttccaac 1200
tgctcgtgt cggttcgca gcaactgtga cgggatggat cgtcttcgct ctcacggcat 1260
cccacccgc ggtgacattg gtgatgctgt tcgtgcaggg cgctttgtcc ttcgcggctg 1320
gctcgacttt gatctcccag gtgtctacg ccgccgacgc ggcaccgacc ttgggtggat 1380
cgttcgcgac ggccgcgttc aacgtcgggt ctgcaactggg accggcgctc ggcgggttgg 1440
cgatcggcat ggggtctgagc taccgcgcc cgctctggac gagcgccgcg ctggtgacac 1500
tcgcgatcgt catcggcgca gccaccttgt ctctgtggcg gcgaccagcg tctgtccacg 1560
aatctgtccc cgcctgacca gaaaccagga tctgtgagtg tggtagactga tctgtgcacg 1620
ctcagcagtc accgcgcgct cgcgtcgtac cgagggccag cgccaacagg tgtgtggagc 1680
tctgcccctg cctctttcac gcgaactcac tgttcagtgc ggcgatacgt gctcgggtgag 1740
ttccactaca gcgaggtacc gagctcgtca ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga 1800
accctatatt gttatatttt ctaaatacat tcaaatatgt atccgctcat gagacaataa 1860
ccctgataaa tgcttcaata atattgaaaa aggaagagta tgagtattca acatttccgt 1920

gtcgccctta ttcctttttt tgcggcatth tgccttctg tttttgctca cccagaaacg 1980
ctggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac gagtgggtta catcgaactg 2040
gatctcaaca gcggttaagat ccttgagagt tttcgccccg aagaacgttt tccaatgatg 2100
agcactttta aagtctgtct atgtggcgcg gtattatccc gtattgacgc cgggcaagag 2160
caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg ttgagtactc accagtcaca 2220
gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat gcagtgtgc cataaccatg 2280
agtgataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg gaggaccgaa ggagctaacc 2340
gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgcttg atcgttggga accggagctg 2400
aatgaagcca taccaaagcga cgagcgtgac accacgatgc ctgtagcaat ggcaacaacg 2460
ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt cccggcaaca attaatagac 2520
tggatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgct cggcccttcc ggctggctgg 2580
tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc gcggtatcat tgcagcactg 2640
gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca cgacggggag tcaggcaact 2700
atggatgaac gaaatagaca gatcgctgag ataggtgcct cactgattaa gcattggtaa 2760
ctgtcagacc aagtttactc atatatactt tagattgatt taaaacttca tttttaattt 2820
aaaaggatct aggtgaagat cttttttgat aatctcatga ccaaaatccc ttaacgtgag 2880
tttctgttcc actgagcgtc agacccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct 2940
ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc agcgggtggtt 3000
tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg 3060
cagataccaa atactgttct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct 3120
gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc 3180
gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgagcg 3240
tcgggctgaa cgggggggtc gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa 3300
ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg 3360
gacaggatc cggtaagcgg cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg 3420
ggaaacgcct ggtatcttta tagtctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga 3480
tttttgtgat gtcgtcagg ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcgcccttt 3540
ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gtcacatgt tctttctgc gttatcccct 3600
gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagtgagctg ataccgctcg ccgagccga 3660

acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcggaag agcgcccaat acgcaaaccg 3720
cctctccccg cgcgttggcc gattcattaa tgcagctggc acgactagag tcccgtgag 3780
gcggcgtagc aggtcagccg cccagcggt ggtcaccaac cggggtggaa cggcgccggt 3840
atcgggtgtg tccgtggcgc tcattccaac ctccgtgtgt ttgtgcaggt ttcgctgtt 3900
gcagtccctc gcaccggcac ccgcagcgag gggctcacgg gtgccggtgg gtcgactagt 3960
tcagtgatgg tgatggtgat gctcgagaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag 4020
aattcccata tggatgatgg gatgggtggc catggtatat ctcttctta aagttaaaca 4080
aaattatttc tagacgccgt ccattatacc tcctcacgtg acgtgaggtg caagcccgga 4140
cgttccgcgt gccacgccgt gagccgccgc gtgccgtcgg ctccctcagc ccgggcggcc 4200
gtgggagccc gcctcgatat gtacaccga gaagctcca gcgtcctcct gggccgcgat 4260
actcgaccac cacgcacga caccgacta acgattcggc cggcgctcga ttcggccggc 4320
gctcgattcg gccggcgctc gattcggccg gcgctcgatt cggccggcgc tcgattcggc 4380
cgagcagaag agtgaacaac caccgaccac gcttccgctc tgcgcgccgt acccgacct 4440
cctcccgag ctccaagcag ctccgggag taccgccga ctacccgcc tgtgtcacc 4500
atccaccgac gcaaagcca acccgagcac acctcttgca ccaagggtgcc gaccgtggct 4560
ttccgctcgc agggttccag aagaaatcga acgatccagc gcggcaagggt tcaaaaagca 4620
ggggttggtg gggaggaggt tttggggggt gtcgccggga tacctgatat ggctttgttt 4680
tgcgtagtcg aataattttc catatagcct cggcgctcg gactcgaata gttgatgtgg 4740
gcgggcacag ttgccccatg aaatccgcaa cggggggcgt gctgagcgat cggcaatggg 4800
cggatgcggt gttgcttccg caccggccgt tcgcgacgaa caacctcaa cgaggtcagt 4860
accgatgag cgcgacgac gcattggcaa tgcggtacgt cgagcattca ccgcacgct 4920
tgctcggatc tatgtcatc gactgcgac acgttgacgc cgcgatgcgc gcattcgagc 4980
aaccatccga ccatccggcg ccgaactggg tcgcacaatc gccgtccggc cgcgcacaca 5040
tcggatggtg gctcggcccc aaccacgtgt gccgcaccga cagcgcccga ctgacgccac 5100
tgcgctacgc ccaccgcatc gaaaccggcc tcaagatcag cgtcggcggc gatttcgct 5160
atggcgggca actgacaaa aaccgattc acccgattg ggagacgatc tacggcccgg 5220
ccaccccgta cacattgcgg cagctggcca ccatccacac acccgggcag atgccgcgtc 5280
ggcccgatcg ggccgtgggc ctgggcccga acgtcaccat gttcgacgcc acccgcgat 5340
gggcataccc gcagtgggtg caacaccgaa acggaaccgg ccgcgactgg gaccatctcg 5400

tcctgcagca ctgccacgcc gtcaacaccg agttcacgac accactgccg ttcaccgaag 5460
tacgcgccac cgcgcaatcc atctccaaat ggatctggcg caatttcacc gaagaacagt 5520
accgagccccg acaagcgcac ctcgggtcaaa aaggcggcaa ggcaacgaca ctgcccaaac 5580
aagaagccgt ccgaaacaat gcaagaaagt acgacgaaca tacgatgcga gaggcgatta 5640
tctgatgggc ggagccaaaa atccggtgcg ccgaaagatg acggcagcag cagcagccga 5700
aaaattcggg gcctccactc gcacaatcca acgcttggtt gctgagccgc gtgacgatta 5760
cctcggccgt gcgaaagctc gccgtgacaa agctgtcgag ctgcggaagc aggggttgaa 5820
gtaccgggaa atcgccgaag cgatggaact ctcgaccggg atcgtcggcc gattactgca 5880
cgacgcccgc aggcacggcg agatttcagc ggaggatctg tcggcgtaac caagtcagcg 5940
ggttgtcggg ttccggcccg cgctcggcac tcggaccggc cggcgatgg tgttctgcct 6000
ctggcgcagc gtcagctacc gccgaaggcc tgtcatcgac cggcttcgac tgaagtatga 6060
gcaacgtcac agcctgtgat tggatgatcc gctcacgctc gaccgctacc tgttcagctg 6120
ccgcccgtg ggcatgagca acggccaact ctc 6153

<210> 104

<211> 6157

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-QC2

<400> 104

gttaacgcat ccgaaacctc caccacctc acctagtccg acatccgtac cttggaaacc 60
gacctgtatt ggcatttcag ttggacatcg accagtggcg ttgctagggt caagaccatg 120
tccagcccga aggcgtccag actctagcca ccggaggtag tccggtggcc acatcccgtc 180
gcgcccgaac gtcacgtctt tgtgtggcct tcccttggtt tttgcgatca gtggcacacc 240
tctaccgtct gaatttcgag tctggcctcg gctgcgcaca tctcgactg tgacgtgtc 300

aggtcacccg cttcgcggct accagttcct ttcacgaat cgagcttccg gtgccgccgc 360
gcagcctccc tgaccatcct cagattttat ggagtctcgc agtgcctttc gctatctacg 420
tcctcgggct tgctgtcttc gcccagggca catccgagtt catgttgtcc ggactcatac 480
cggacatggc ccgtgacctc ggggtttcgg tccccgccgc cggactcctc acctccgcct 540
tcgcggtcgg gatgatcatc ggcgctccgt tgatggctat cgccagcatg cgggtggcccc 600
ggcgacgcgc ctttctgaca ttctcatca cgttcatgct ggtccacgtc atcggcgcg 660
tcaccagcag cttcgaggtc ttgctgtca cacgcatcgt gggagccctc gccaatgccg 720
gattcttggc agtggccctg ggggcggcga tggcgatggt gcccgccgac atgaaagggc 780
gcgccacgtc cgtcctcctc ggcggtgtca cgatcgcatg ttagaccggt gttcccgggg 840
gcgccttccct gggtgaaatg tggggctggc gtgcagcgtt ctgggctgtc gtcgtcatct 900
ccgcccctgc agtgggtggc attatgttcg ccacccggc cgagccgctt gcagagtcca 960
caccgaatgc caagcgtgaa ctgtcctcac tgcgctcacg caagctccag ctcatgcttg 1020
tcctcggggc gctgatcaac ggcgcaacgt tctgttcgtt cacgtacatg gcgccacgc 1080
tcaccgacat ctccggtttc gactcccggtt ggattccgtt gctgctgggg ctgttcgggc 1140
tcggatcgtt catcggtgtc agcgtcggag gcaggctcgc cgacaccgg ccgttccaac 1200
tgctcgtgt cggttcgca gcaactgtga cgggatggat cgtcttcgct ctcacggcat 1260
cccacccgc ggtgacattg gtgatgctgt tcgtgcaggg cgctttgtcc ttgcgggtcg 1320
gctcgacttt gatctcccag gtgctctacg ccgccgacgc ggcaccgacc ttgggtggat 1380
cgttcgcgac ggccgcgttc aacgtcgggt ctgactggg accggcgctc ggccgggttg 1440
cgatcggcat ggggtctgagc taccgcgcc cgctctggac gagcgccgcg ctggtgacac 1500
tcgcgatcgt catcggcgca gccaccttgt ctctgtggcg gcgaccagcg tctgtccacg 1560
aatctgtccc cgctgacca gaaaccagga tctgtgagtg tggtagactga tctgtgcacg 1620
ctcagcagtc accgcgcgct cgcgtcgtac cgagggccag cgccaacagg tgtgtggagc 1680
tctgcccctg cctctttcac gcgaactcac tgttcagtgc ggcgatacgt gctcgggtgag 1740
ttccactaca gcgaggtacc gagctcgtca ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga 1800
accctatatt gtttattttt ctaaatacat tcaaatatgt atccgctcat gagacaataa 1860
ccctgataaa tgcttcaata atattgaaaa aggaagagta tgagtattca acatttccgt 1920
gtcgcctta ttcccttttt tgcggcatit tgccttcctg tttttgtca ccagaaacg 1980
ctggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac gagtgggtta catcgaactg 2040

gatctcaaca gcggtgaagat ccttgagagt tttcgccccg aagaacgttt tccaatgatg 2100
agcactttta aagttctgct atgtggcgcg gtattatccc gtattgacgc cgggcaagag 2160
caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg ttgagtactc accagtcaca 2220
gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat gcagtgtgc cataaccatg 2280
agtgataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg gaggaccgaa ggagctaacc 2340
gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgccttg atcgttggga accggagctg 2400
aatgaagcca taccaaacga cgagcgtgac accacgatgc ctgtagcaat ggcaacaacg 2460
ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt cccggcaaca attaatagac 2520
tggatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgct cggcccttcc ggctggctgg 2580
tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc gcggtatcat tgcagcactg 2640
gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca cgacggggag tcaggcaact 2700
atggatgaac gaaatagaca gatcgctgag atagggtcct cactgattaa gcattggtaa 2760
ctgtcagacc aagtttactc atatatactt tagattgatt taaaacttca tttttaattt 2820
aaaaggatct aggtgaagat cttttttgat aatctcatga ccaaaatccc ttaacgtgag 2880
tttctgtcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct 2940
ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc agcggtggtt 3000
tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg 3060
cagataccaa atactgttct tctagttag ccgtagttag gccaccactt caagaactct 3120
gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc 3180
gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgagcg 3240
tcgggctgaa cgggggggttc gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa 3300
ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg 3360
gacaggtatc cggtaaagcg cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg 3420
ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga 3480
tttttgtgat gctcgtcagg ggggcgagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccttt 3540
ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gtcacatgt tctttctgc gttatcccct 3600
gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagtgagctg ataccgctcg ccgcagccga 3660
acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcggaag agcgcccaat acgcaaaccg 3720
cctctccccg cgcgttggcc gattcattaa tgcagctggc acgactagag tcccgtgag 3780

gcggcgtagc aggtcagccg cccagcggt ggtcaccaac cggggtggaa cggcgccggt 3840
atcgggtgtg tccgtggcgc tcattccaac ctccgtgtgt ttgtgcaggt ttcgctgtt 3900
gcagtccctc gcaccggcac cgcagcgag gggctcacgg gtgccggtgg gtcgactagt 3960
tcagtgatgg tgatggtgat gctcgagaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag 4020
aattcccatg gcgtgatggt gatggtgatg gccatatgt atatctcctt cttaaagtta 4080
aacaaaatta tttctagacg cgtccatta tacctcctca cgtgacgtga ggtgcaagcc 4140
cggacgttcc gcgtgccacg ccgtgagccg ccgcgtgccg tcggctccct cagcccgggc 4200
ggcgtggga gccgcctcg atatgtacac ccgagaagct cccagcgtcc tcctgggccg 4260
cgatactcga ccaccacgca cgcacaccgc actaacgatt cggccggcgc tcgattcggc 4320
cggcgctcga ttcggccggc gctcgattcg gccggcgctc gattcggccg gcgctcgatt 4380
cggccgagca gaagagtga caaccaccga ccacgcttcc gctctgcgcg ccgtaccga 4440
cctacctccc gcagctcgaa gcagctcccg ggagtaccgc cgtactcacc cgcctgtgct 4500
caccatccac cgacgcaaag cccaaccga gcacacctt tgcaccaagg tgccgaccgt 4560
ggctttccgc tcgcagggtt ccagaagaaa tcgaacgatc cagcgcgga aggttcaaaa 4620
agcaggggtt ggtggggagg aggttttggg ggggtgtgcc gggatactg atatggcttt 4680
gttttgcgta gtcgaataat tttccatata gcctcggcgc gtcggactcg aatagttgat 4740
gtgggcgggc acagttgcc catgaaatcc gcaacggggg gcgtgctgag cgatcggcaa 4800
tgggcggatg cgggtgttgc tccgcaccgg ccgttcgca cgaacaacct ccaacgaggt 4860
cagtaccgga tgagccgca cgacgcattg gcaatgcggt acgtcgagca ttcaccgcac 4920
gcgttgctcg gatctatcgt catcgactgc gatcacgttg acgccgcgat gcgcgcttc 4980
gagcaaccat ccgaccatcc ggcgccgaac tgggtcgca aatcgccgtc cggccgcga 5040
cacatcggat ggtggctcgg cccaaccac gtgtgccga ccgacagcg ccgactgacg 5100
ccactgcgt acgcccaccg catcgaaacc ggcctcaaga tcagcgtcgg cggcgatttc 5160
gcgtatggcg ggcaactgac caaaaaccg attcaccg attgggagac gatctacggc 5220
ccggccacc cgtacacatt gcggcagctg gccaccatcc acacaccg gcagatgccg 5280
cgtcggcccc atcgggccgt gggcctgggc cgcaacgtca ccatgttcga cgccaccg 5340
cgatgggcat accgcagtg gtggcaacac cgaaacggaa ccggccgca ctgggacat 5400
ctcgtcctgc agcactgcca cgccgtcaac accgagtca cgacaccact gccgttcacc 5460
gaagtacgc ccaccgcga atccatctcc aaatggatct ggcgcaattt caccgaagaa 5520

cagtaccgag cccgacaagc gcatctcggg caaaaaggcg gcaaggcaac gacactcgcc 5580
aaacaagaag ccgtccgaaa caatgcaaga aagtagcagc aacatacgat gcgagaggcg 5640
attatctgat gggcggagcc aaaaatccgg tgcgccgaaa gatgacggca gcagcagcag 5700
ccgaaaaatt cggcgcctcc actcgcacaa tccaacgctt gtttgctgag ccgcgtgacg 5760
attacctcgg ccgtgcgaaa gctcgccgtg acaaagctgt cgagctgcgg aagcaggggt 5820
tgaagtaccg ggaaatcgcc gaagcgatgg aactctcgac cgggatcgtc ggccgattac 5880
tgcacgacgc ccgcaggcac ggcgagattt cagcggagga tctgtcggcg taaccaagtc 5940
agcgggttgt cgggttccgg ccggcgctcg gcactcggac cggccggcgg atggtgttct 6000
gcctctggcg cagcgtcagc taccgccgaa ggcctgtcat cgaccggctt cgactgaagt 6060
atgagcaacg tcacagcctg tgattggatg atccgctcac gctcgaccgc tacctgttca 6120
gctgccgccc gctgggcatg agcaacggcc aactctc 6157

<210> 105

<211> 6227

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-RC1

<400> 105

gttaacgcat ccgaaacctc caccacctc acctagtccg acatccgtac ctiggaacc 60
gacctgtatt ggcatctcag ttggacatcg accagtggcg ttgctagggt caagaccatg 120
tccagcccga aggcgtccag actctagcca ccggaggtag tccggtggcc acatcccgctc 180
gcgcccgaac gtcacgctct tgtgtggcct tcccttggtg tttgcgatca gtggcacacc 240
tctaccgtct gaatttcgag tctggcctcg gctgcgcaca tctcgactg tgacgctgtc 300
aggtcacccg cttcgcgggt accagttcct ttcacgaat cgagcttccg gtgccgccgc 360
gcagcctccc tgaccatcct cagatcttat ggagtctcg agtgcccttc gctatctacg 420

tcctcgggct tgctgtcttc gcccagggca catccgagtt catgttgtcc ggactcatac 480
cggacatggc ccgtgacctc ggggttttcgg tccccgccgc cggactcctc acctccgcct 540
tcgcggtcgg gatgatcatc ggcgctccgt tgatggctat cgccagcatg cgggtggcccc 600
ggcgacgcgc ctttctgaca ttctcatca cgttcatgct ggtccacgtc atcggcgcgcg 660
tcaccagcag cttcgaggtc ttgctgggtca cacgcatcgt gggagccctc gccaatgccg 720
gattcttggc agtggccctg ggggcggcga tggcgatggt gcccgccgac atgaaagggc 780
gcgccacgtc cgtcctcctc ggcggtgtca cgatcgcatg tgtagccggt gttcccgggg 840
gcgctttcct gggtgaaatg tggggctggc gtgcagcgtt ctgggctgtc gtcgtcatct 900
ccgcccctgc agtgggtggc attatgttcg ccaccccggc cgagccgctt gcagagtcca 960
caccgaatgc caagcgtgaa ctgtcctcac tgcgtcacg caagctccag ctcatgcttg 1020
tcctcggggc gctgatcaac ggcgcaacgt tctgttcgtt cacgtacatg gcgcccacgc 1080
tcaccgacat ctccggtttc gactcccgtt ggattccgtt gctgctgggg ctgttcgggc 1140
tcggatcgtt catcggtgtc agcgtcggag gcaggctcgc cgacaccgg ccgttccaac 1200
tgctcgctgt cgggtccgca gcaactgtga cgggatggat cgtcttcgct ctcacggcat 1260
cccacccgcg ggtgacattg gtgatgtgt tctgtcaggg cgctttgtcc ttcgcggtcg 1320
gctcgacttt gatctcccag gtgctctacg ccgccgacgc ggcaccgacc ttgggtggat 1380
cgttcgcgac ggccgcgttc aacgtcgggtg ctgcaactgg accggcgctc ggcgggttgg 1440
cgatcggcat ggggtctgagc taccgcgccc cgctctggac gagcgccgcg ctggtgacac 1500
tcgcgatcgt catcggcgca gccacctgt ctctgtggcg gcgaccagcg tctgtccacg 1560
aatctgtccc cgcctgacca gaaaccagga tctgtgagtg tgggtgactga tctgtgcacg 1620
ctcagcagtc accgcgcgct cgcgtcgtac cgagggccag cgccaacagg tgtgtggagc 1680
tctgcccctg cctctttcac gcgaactcac tgttcagtgc ggcgatacgt gctcggtgag 1740
ttccactaca gcgaggtacc gagctcgtca ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga 1800
accctatatt gtttatTTTT ctaaatacat tcaaatatgt atccgctcat gagacaataa 1860
ccctgataaa tgcttcaata atattgaaaa aggaagagta tgagtattca acatttccgt 1920
gtcgccctta ttcccttttt tgcggcattt tgccttcctg tttttgtca ccagaaaacg 1980
ctggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac gagtgggtta catcgaactg 2040
gatctcaaca gcggtgaagat ccttgagagt tttcgccccg aagaacgttt tccaatgatg 2100
agcactttta aagttctgct atgtggcgcg gtattatccc gtattgacgc cgggcaagag 2160

caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg ttgagtactc accagtcaca 2220
gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat gcagtgtgc cataaccatg 2280
agtgataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg gaggaccgaa ggagctaacc 2340
gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgccttg atcgttggga accggagctg 2400
aatgaagcca taccaaacga cgagcgtgac accacgatgc ctgtagcaat ggcaacaacg 2460
ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt cccggcaaca attaatagac 2520
tggatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgct cggcccttcc ggctggctgg 2580
tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc gcggtatcat tgcagcactg 2640
gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca cgacggggag tcaggcaact 2700
atggatgaac gaaatagaca gatcgtgag ataggtgcct cactgattaa gcattggtaa 2760
ctgtcagacc aagtttactc atatatactt tagattgatt taaaacttca tttttaattt 2820
aaaaggatct aggtgaagat cctttttgat aatctcatga ccaaataccc ttaacgtgag 2880
ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct 2940
ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc agcggtggtt 3000
tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg 3060
cagataccaa atactgttct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct 3120
gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc 3180
gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgagcg 3240
tcgggctgaa cgggggggtc gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa 3300
ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg 3360
gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg 3420
ggaaacgcct ggtatcttta tagtctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga 3480
tttttgtgat gctcgtcagg ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccttt 3540
ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tctttcctgc gttatcccct 3600
gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagtgagctg ataccgctcg ccgcagccga 3660
acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcggaag agcgcccaat acgcaaaccg 3720
cctctccccg cgcgttggcc gattcattaa tgcagctggc acgactagag tcccgtgag 3780
gcggcgtagc aggtcagccg ccccagcggg ggtcaccaac cggggtggaa cggcgccggg 3840
atcgggtgtg tccgtggcgc tcattccaac ctccgtgtgt ttgtgcaggt ttcgctgtt 3900

gcagtcctc gcaccggcac ccgcagcgag gggctcacgg gtgccggtgg gtcgactagt 3960
tcagtgatgg tgatggtgat gctcgagaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag 4020
aattcccata tggatgatgg gatggtggcc catggtatat ctccttctta aagttaaaca 4080
aaattatttc tagacgccgt ccattatacc tcctcacgtg acgtgaggtg caagcccgga 4140
cgttccgcgt gccacgccgt gagccgccgc gtgccgtcgg ctccctcagc ccgggcggcc 4200
gtgggagccc gcctcgatat gtacaagcat ggggactcgc cgcggactag cggcttcccg 4260
acacgccgta ctgaccagca gatcagcgat aaacgctggt tctgctggtt aagtggataa 4320
aaaccaaata atcgatgaac ctcgaagtgg agtatccgag ctgaactagc tggatttact 4380
ccgaaaatac gagcggcgac gaagggtgtt ggaccaccct gccgccgcct tcgaggctcc 4440
tacttgacta ggaccccgct cgttatgacc agcgtaagt ctgaacacct ttccggcaaa 4500
gaccggcccc ctgtcctcgt gtcgtccgat aagcgcggca tccggcacga acttcgaccc 4560
aaacttcaac aaatcaccac gtcagaaact tttaatgcgt gcggccggcc gatttccggc 4620
gtgaacggtg tgaccatcgt caacggtccc aaaggttccg gatttggagg ctttcgctcc 4680
tgcggaagg gctggatcgt cccctgctgt gcgggaaaag tcggcgacaca tcgagcagac 4740
gaaatttctc aagtgttg ctcacactc gggactggat ctgttcgat ggtgaccatg 4800
accatgcgcc ataccgctgg gcagcgttt catgatttgt ggactggact ttcggcagcc 4860
tggaagctg cgaccaatgg ccgccgatgg cgtaccgaac gtgaaatgta cggctgcgac 4920
ggatacgtac gagctgttga aatcactcac ggaaaaaacg gttggcacgt tcacgtccac 4980
gctctactca tggtcagcgg tgacgtgagt gagaacatcc tcgaatcctt ctcggatgcg 5040
atgttcgatc ggtggacctc caaactcgtg tctctgggat ttgctgcgcc actacgtaat 5100
tcaggaggac tcgacgtaag aaagattggt ggagaagctg accaagttct cgctgcatac 5160
ctgacgaaaa ttgcatccgg ggtcggcatg gaagtcggca gtggcgacgg aaaaagtgg 5220
cggcacggca accgtgcacc ttgggaaatc gccgttgatg cagtcggagg agatccacaa 5280
gcgttggaac tctggcgca gtttgagttc ggttcgatgg gacgccgagc aatcgcattg 5340
tctcgtggac tgccgccccg agctggtctt ggcgtagaac tcacggatgc tcagattgtc 5400
gaacaggaag aatctgcccc ggtcatggtt gcgattc cggctcggtc ctggatgatg 5460
attcggaaact gtgcgcctta cgttttcgga gagatccttg gactcgtgga agcgggcgcg 5520
acctgggaaa accttcgtga ccacttgcatt tatcgattgc ctgcagcgga tgtcggccct 5580
ccgataatat cgattcgtaa gtgaaatgtc ttggtgtgca acaactttca ctcgtatgaa 5640

ccacacttga gggcatcccc ccgatacttg ccgctttgaa gctgggtgtc tctctgtcag 5700
ggctgcgata gcaccgcgta gcggcttggc cttgacagag agacggcctg tttcatggtt 5760
ggctctgggg ggctgaccgg gcagatagaa aaaggccggc cgatttggct gccgactatt 5820
tttgcaggta aacccatctc atgagcatca atgaacgtcc cgttgggtatc gcagcgaatg 5880
cagcttcggt agacgtcgat ggcgttgtga tgggtgtgta tctctcgctt tatgggcaag 5940
aatcacgct agatcgagat gatgcgttcc tactcctcga tcgacttcag gacgcgttgc 6000
gacctcaagc caactaagaa ccctccagat ggtctaaacg aggcgcaaac tcgctcctgg 6060
gcctgcgggc ggagcaccga agcgcgagcg aagcggagcg cgtaggtggg ggagcctgcg 6120
ggcagcggcg gcggagccgc cgccttggta ataggtgatc atcggggcca tagcaggtca 6180
gaggatgttt ttacgatgac tcatgctcac cacgccaagt actgatg 6227

<210> 106

<211> 6231

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-RC2

<400> 106

gttaacgcat ccgaaacctc caccacctc acctagtccg acatccgtac cttggaaacc 60
gacctgtatt ggcatttcag ttggacatcg accagtggcg ttgctagggt caagaccatg 120
tccagcccga aggcgtccag actctagcca ccggaggtag tccggtggcc acatcccgctc 180
gcgcccgaac gtcacgctct tgtgtggcct tcccttgttg tttgcgatca gtggcacacc 240
tctaccgtct gaatttcgag tctggcctcg gctgcgcaca tctcgactg tgacgtgtc 300
aggtcacccg cttcgcggct accagttcct ttcacgaat cgagcttccg gtgccgccgc 360
gcagcctccc tgaccatcct cagattttat ggagtctcg agtgccttcc gctatctacg 420
tcctcgggct tgctgtcttc gccagggca catccgagtt catgttgtcc ggactcatac 480

cggacatggc ccgtgacctc ggggtttcgg tccccgccgc cggactcctc acctccgcct 540
tcgcggtcgg gatgatcatc ggcgctccgt tgatggctat cgccagcatg cgggtggcccc 600
ggcgacgcgc ctttctgaca ttctcatca cgttcatgct ggtccacgtc atcggcgcgc 660
tcaccagcag cticgaggtc ttgctgggtca cacgcatcgt gggagccctc gccaatgccg 720
gattcttggc agtggccctg ggggcggcga tggcgatggt gcccgccgac atgaaagggc 780
gcgccacgtc cgtctcctc ggcggtgtca cgatcgcatg ttagccgggt gtccccgggg 840
gcgccttcct gggtgaaatg tggggctggc gtgcagcgtt ctgggctgtc gtcgtcatct 900
ccgcccctgc agtgggtggc attatgttcg ccaccccggc cgagccgctt gcagagtcca 960
caccgaatgc caagcgtgaa ctgtcctcac tgcgctcacg caagctccag ctcatgcttg 1020
tcctcggggc gctgatcaac ggcgcaacgt tctgttcgtt cacgtacatg gcgcccacgc 1080
tcaccgacat ctccggtttc gactcccgtt ggattccgtt gctgctgggg ctgttcgggc 1140
tcggatcgtt catcggtgtc agcgtcggag gcaggctcgc cgacaccgg ccgttccaac 1200
tgctcgtgt cgggtccgca gcaactgtga cgggatggat cgtcttcgt ctcacggcat 1260
cccaccccgc ggtgacattg gtgatgtgt tcgtgcaggg cgctttgtcc ttcgcggtcg 1320
gctcgacttt gatctcccag gtgctctacg ccgccgacgc ggcaccgacc ttgggtggat 1380
cgttcgcgac ggccgcgttc aacgtcgggt ctgcactggg accggcgctc ggcgggttg 1440
cgatcggcat ggggtctgagc taccgcgccc cgctctggac gagcgccgcg ctggtgacac 1500
tcgcgatcgt catcggcgca gccacctgt ctctgtggcg gcgaccagcg tctgtccacg 1560
aatctgtccc cgcctgacca gaaaccagga tctgtgagtg tggtgactga tctgtgcacg 1620
ctcagcagtc accgcgcgct cgcgtcgtac cgagggccag cgccaacagg tgtgtggagc 1680
tctgcccctg cctctttcac gcgaactcac tgttcagtgc ggcgatacgt gctcggtgag 1740
ttccactaca gcgaggtacc gagctcgtca ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga 1800
accctatatt gtttatTTTT ctaaatacat tcaaatatgt atccgctcat gagacaataa 1860
ccctgataaa tgcttcaata atattgaaaa aggaagagta tgagtattca acatttcctg 1920
gtcgccctta ttcccttttt tgcggcattt tgccttcctg tttttgctca ccagaaaacg 1980
ctggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac gagtgggtta catcgaactg 2040
gatctcaaca gcggtgaagat ccttgagagt tttcgccccg aagaacgttt tccaatgatg 2100
agcactttta aagtctgtct atgtggcgcg gtattatccc gtattgacgc cgggcaagag 2160
caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg ttgagtactc accagtcaca 2220

gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat gcagtgtgc cataaccatg 2280
agtgataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg gaggaccgaa ggagctaacc 2340
gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgcttg atcgttggga accggagctg 2400
aatgaagcca taccaaacga cgagcgtgac accacgatgc ctgtagcaat ggcaacaacg 2460
ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt cccggcaaca attaatagac 2520
tggatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgct cggcccttcc ggctggctgg 2580
tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc gcggtatcat tgcagcactg 2640
gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca cgacggggag tcaggcaact 2700
atggatgaac gaaatagaca gatcgtgag ataggtgcct cactgattaa gcattggtaa 2760
ctgtcagacc aagtttactc atatatactt tagattgatt taaaacttca tttttaattt 2820
aaaaggatct aggtgaagat cctttttgat aatctcätga ccaaaatccc ttaacgtgag 2880
ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct 2940
ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc agcgggtggtt 3000
tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg 3060
cagataccaa atactgttct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct 3120
gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc 3180
gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgagcgg 3240
tcgggctgaa cgggggggtt gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa 3300
ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg 3360
gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg 3420
ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga 3480
tttttgtgat gctcgtcagg ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccttt 3540
ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gtcacatgt tctttcctgc gttatcccct 3600
gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagttagctg ataccgctcg ccgcagccga 3660
acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcggaag agcgcccaat acgcaaaccg 3720
cctctccccg cgcggtggcc gattcattaa tgcagctggc acgactagag tcccgtgag 3780
gcggcgtagc aggtcagccg ccccagcggg ggtcaccaac cgggggtggaa cggcgccggg 3840
atcgggtgtg tccgtggcgc tcattccaac ctccgtgtgt ttgtgcaggt ttcgctgtt 3900
gcagtccctc gcaccggcac ccgcagcgag gggctcacgg gtgccggtgg gtcgactagt 3960

tcagtgatgg tgatggtgat gctcgagaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag 4020
aatccccatg gcgtgatggt gatggtgatg gcccatatgt atatctcctt cttaaagtta 4080
aacaaaatta tttctagacg ccgtccatta tacctcctca cgtgacgtga ggtgcaagcc 4140
cggacgttcc gcgtgccacg ccgtgagccg ccgcgtgccg tcggctccct cagcccgggc 4200
ggccgtggga gcccgcctcg atatgtacaa gcatggggac tcgccgcgga ctagcggctt 4260
cccgacacgc cgtactgacc agcagatcag cgataaacgc tgtttctgct ggttaagtgg 4320
ataaaaacca aataatcgat gaacctcgaa gtggagtatc cgagctgaac tagctggatt 4380
tactccgaaa atacgagcgg cgacgaaggg tgttggaacca ccctgccgcc gccttcgagg 4440
ctcctacttg actaggaccc cgctcgttat gaccagcgta agtgctgaac acctttccgg 4500
caaagaccgg cccctgtcc tcgtgtcgtc cgataagcgc ggcatccggc acgaacttcg 4560
acccaaactt caacaaatca ccacgtcaga aacttttaat gcgtgcggcc ggccgatttc 4620
cggcgtgaac ggtgtgacca tcgtcaacgg tcccaaaggt tccggatttg gaggccttcg 4680
ctcctgcgga aagggctgga tctgcccctg ctgtgcggga aaagtcggcg cacatcgagc 4740
agacgaaatt tctcaagttg ttgctcatca actcgggact ggatctgttg cgatggtgac 4800
catgaccatg cgccataccg ctgggcagcg tttgcatgat ttgtggactg gactttcggc 4860
agcctggaaa gctgcgacca atggccgccg atggcgtaac gaacgtgaaa tgtacggctg 4920
cgacggatac gtacgagctg ttgaaatcac tcacggaaaa aacggttggc acgttcacgt 4980
ccacgctcta ctcattgtca gcggtgacgt gagtgagaac atcctcgaat ccttctcgga 5040
tgcatgttc gatcggtgga cctccaaact cgtgtctctg ggatttgctg cgccactacg 5100
taattcaggt ggactcgacg taagaaagat tgggtggagaa gctgaccaag ttctcgctgc 5160
atactgacg aaaattgcat ccggggctcg catggaagtc ggcatggcg acggaaaaag 5220
tggtcggcac ggcaaccgtg caccttggga aatcgccgtt gatgcagtcg gaggagatcc 5280
acaagcgttg gaactctggc gcgagtttga gttcggttcg atgggacgcc gagcaatcgc 5340
atggtctcgt ggactgcgcg cccgagctgg tcttggcgta gaactcacgg atgctcagat 5400
tgtcgaacag gaagaatctg ccccggtcat ggttgcgata attccggctc ggtcctggat 5460
gatgattcgg aactgtgcgc cttacgtttt cggagagatc cttggactcg tggaagcggg 5520
cgcgacctgg gaaaaccttc gtgaccatt gcattatcga ttgcctgcag cggatgtgcg 5580
gcctccgata atatcgattc gtaagtgaat tgtcttgggt tgcaacaact ttcactcgta 5640
tgaaccacac ttgagggcat ccccccata cttgccgctt tgaagctggg tgtctctctg 5700

tcagggctgc gatagcaccg cgtagcggct tggccttgac agagagacgg cctgtttcat 5760
ggttggctctc ggggggctga ccgggcagat agaaaaaggc cggccgattt ggctgccgac 5820
tatttttgca ggtaaaccga tctcatgagc atcaatgaac gtcccgttgg tatcgcagcg 5880
aatgcagctt cggtagacgt cgatggcggt gtgatgggtg tgtatctctc gctttatggg 5940
caagaaatca cgctagatcg agatgatgcg ttcctactcc tcgatcgact tcaggacgcg 6000
ttgcgacctc aagccaacta agaaccctcc agatggtcta aacgaggcgc aaactcgctc 6060
ctgggcctgc gggcggagca ccgaagcgcg agcgaagcgg agcgcgtagg tgggggagcc 6120
tgcgggcagc ggcggcggag ccgccgcctt ggtaataggt gatcatcggg gccatagcag 6180
gtcagaggat gtttttacga tgactcatgc tcaccacgcc aagtactgat g 6231

<210> 107

<211> 124

<212> DNA

<213> Rhodococcus erythropolis

<220>

<223> mutated TipA gene promoter

<400> 107

cgccccgggct gagggagccg acggcacgcg gcggctcacg gcgtggcacg cggaacgtcc 60
gggcttgac ctcacgtcac gtgaggaggt ataatggacg gcgtcagaga aggggacggc 120
catg 124

【 0 1 4 4 】

【配列表フリーテキスト】

配列 1 ～ 4 8 : プライマー、リンカー

配列 4 9 ～ 5 6 : ベクター

配列 5 7 ～ 8 9 : プライマー、リンカー

配列 9 0 : 内在性プラスミド pRE8424

配列 91～106：ベクター

配列 107：改変 Tip A 遺伝子プロモーター

【図面の簡単な説明】

【図 1】

誘導型発現ベクターのバックボーンになるプラスミド pHN136 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対（キロベースペア：kb）を示す。

【図 2】

チオストレプトン耐性遺伝子を持つプラスミド pHN143 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対（キロベースペア：kb）を示す。CIAP は Calf Intestine Alkaline Phosphatase を、Blu. は平滑末端（Blunt end）を意味する。

【図 3】

Inducer cassette を持つプラスミド pHN62 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対（キロベースペア：kb）を示す。Blu. は平滑末端（Blunt end）を意味する。

【図 4】

Expression cassette を持つプラスミド pHN153 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対（キロベースペア：kb）を示す。CIAP は（Calf Intestine Alkaline Phosphatase を Blu. は平滑末端（Blunt end）を意味する。

【図 5】

テトラサイクリン耐性遺伝子を持つプラスミド pHN169 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対（キロベースペア：kb）を示す。CIAP は Calf Intestine Alkaline Phosphatase を、Blu. は平滑末端（Blunt end）を意味する。

【図 6】

PIP をレポーター遺伝子として持つ誘導型発現ベクタープラスミド pHN170、pHN171 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置を示す。数字

は塩基対 (キロベースペア:kb) を示す。CIAPはCalf Intestine Alkaline Phosphataseを意味する。

【図 7】

マルチクローニング部位を持つ誘導型発現ベクタープラスミド pTip-NH1、pTip-CH1、pTip-LNH1、pTip-LCH1 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対 (キロベースペア:kb) を示す。

【図 8】

マルチクローニング部位を持つ誘導型発現ベクタープラスミド pTip-NH2、pTip-CH2、pTip-LNH2、pTip-LCH2 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対 (キロベースペア:kb) を示す。

【図 9 a】

pTip-NH1、pTip-CH1、pTip-LNH1、pTip-LNH1、pTip-NH2、pTip-CH2、pTip-LNH2、pTip-LCH2 のマップを示す図である。各領域の機能と、プラスミドのマップを示す。

【図 9 b】

pTip-NH1、pTip-LNH1 の TipA 遺伝子プロモーター配列、または TipA-LG10 プロモーター配列から、マルチクローニング部位、ThcA 遺伝子転写終結配列までの DNA 配列を示す。

【図 9 c】

pTip-CH1、pTip-LCH1 の TipA 遺伝子プロモーター配列、または TipA-LG10 プロモーター配列から、マルチクローニング部位、ThcA 遺伝子転写終結配列までの DNA 配列を示す。

【図 9 d】

pTip-NH2、pTip-LNH2 の TipA 遺伝子プロモーター配列、または TipA-LG10 プロモーター配列から、マルチクローニング部位、ThcA 遺伝子転写終結配列までの DNA 配列を示す。

【図 9 e】

pTip-CH2、pTip-LCH2 の TipA 遺伝子プロモーター配列、または TipA-LG10 プロモーター配列から、マルチクローニング部位、ThcA 遺伝子転写終結配列までの DNA

配列を示す。

【図 10】

pTip-CH1.1、pTip-LCH1.1、pTip-CH2.1およびpTip-LCH2.1のマップを示す図である。

【図 11】

PIP活性測定のためのコントロールプラスミドpHN172、pHN173の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置を示す。数字は塩基対（キロベースパー：kb）を示す。また、CIAPはCalf Intestine Alkaline Phosphataseを意味する。pHN170は、「Expression cassette」と「Inducer cassette」両方をもつものに対して、pHN173は「Expression cassette」のみをもち、pHN172は両cassetteを持たない。

【図 12】

TipA遺伝子プロモーター配列を示す図である。

【図 13】

TipA遺伝子プロモーターのTipA-LG10プロモーターへの改良を示す図である。

【図 14】

pRE8424のマップを示す図である。図中には主な制限酵素認識部位が示されていて、オープンリーディングフレーム（ORF）が矢印で示されている。DSOとSSOの位置が四角で示されている。

【図 15】

pRE8424、pAP1、pBL1、pJV1、pIJ101、pSN22のRepタンパク質の5カ所の保存された領域（Motif IV、Motif I、Motif II、Motif III、C-terminal motif）のアミノ酸配列を示す図である。Repタンパク質の機能に重要とされるチロシン残基は四角で囲ってある。

【図 16】

pRE8424、pAP1、pBL1、pJV1、pIJ101、pSN22のDSOと考えられる配列のうち、特に保存されたDNA配列を示す図である。

【図 17】

pRE8424のSSO、即ち配列表中の配列番号90のうちヌクレオチド番号5268から

5538の配列と、その取りうる二次構造を示す図である。

【図 18-1】

pTipベクターのマップを示す図である。

【図 18-2】

pNitベクターのマップを示す図である。

【図 19】

TipA-LG10p - MCS - ALDHt、Nit-LG10 - MCS - ALDHtのDNA配列を示す図である。TipA遺伝子プロモーターの野生型-10領域配列はCAGCGTで、Nitプロモーターの-10領域配列はTATAATで、おのこの四角で囲まれている。

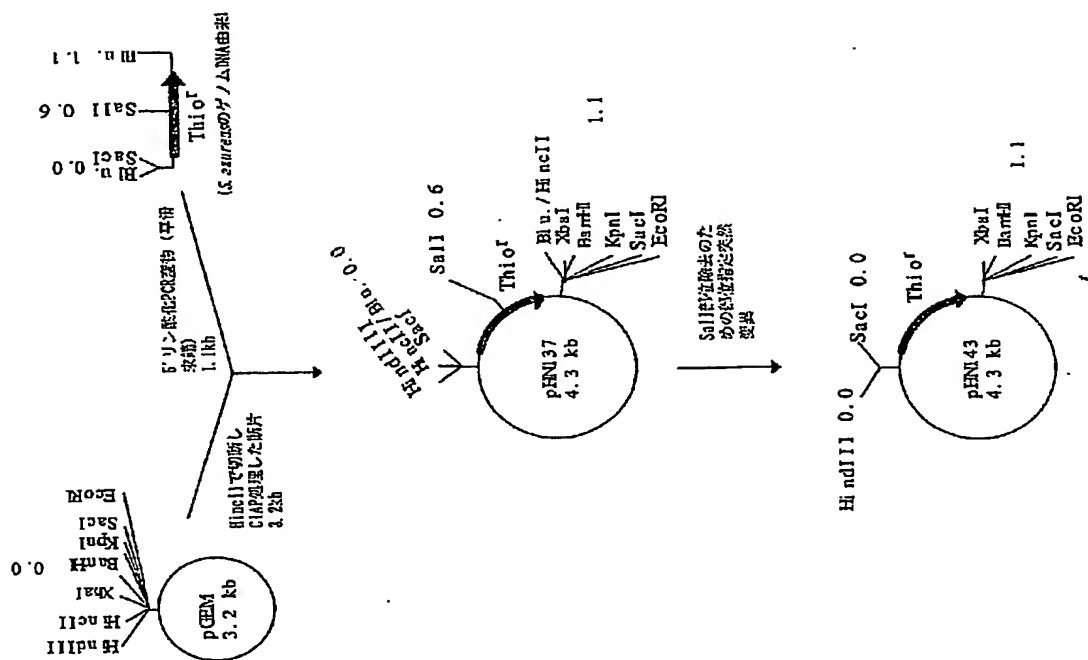
【図 20】

R. erythropolis JCM3201株をpHN380、pHN410、pHN381、pHN387、pHN389で、形質転換し、PIPのペプチダーゼ活性を測定した結果を示す図である。

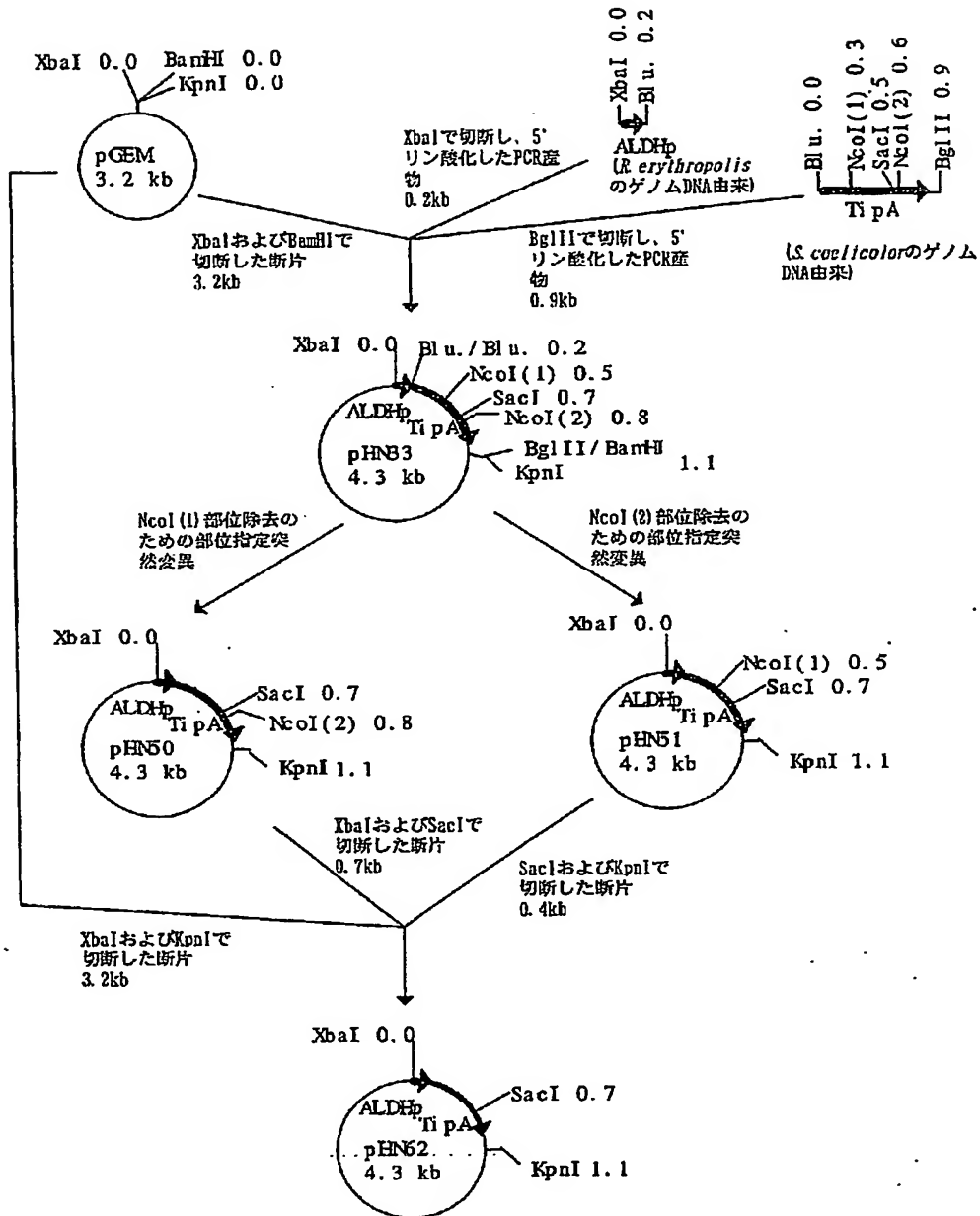
【図 21】

PIP、GFPを不和合性を起こさない2つのベクターに組み込み、単一のR. erythropolis JCM3201細胞で、発現、精製し、SDSポリアクリルアミド電気泳動結果後、ゲルをクマシーブリリアントグリーンG-250で染色した結果を示す図である。

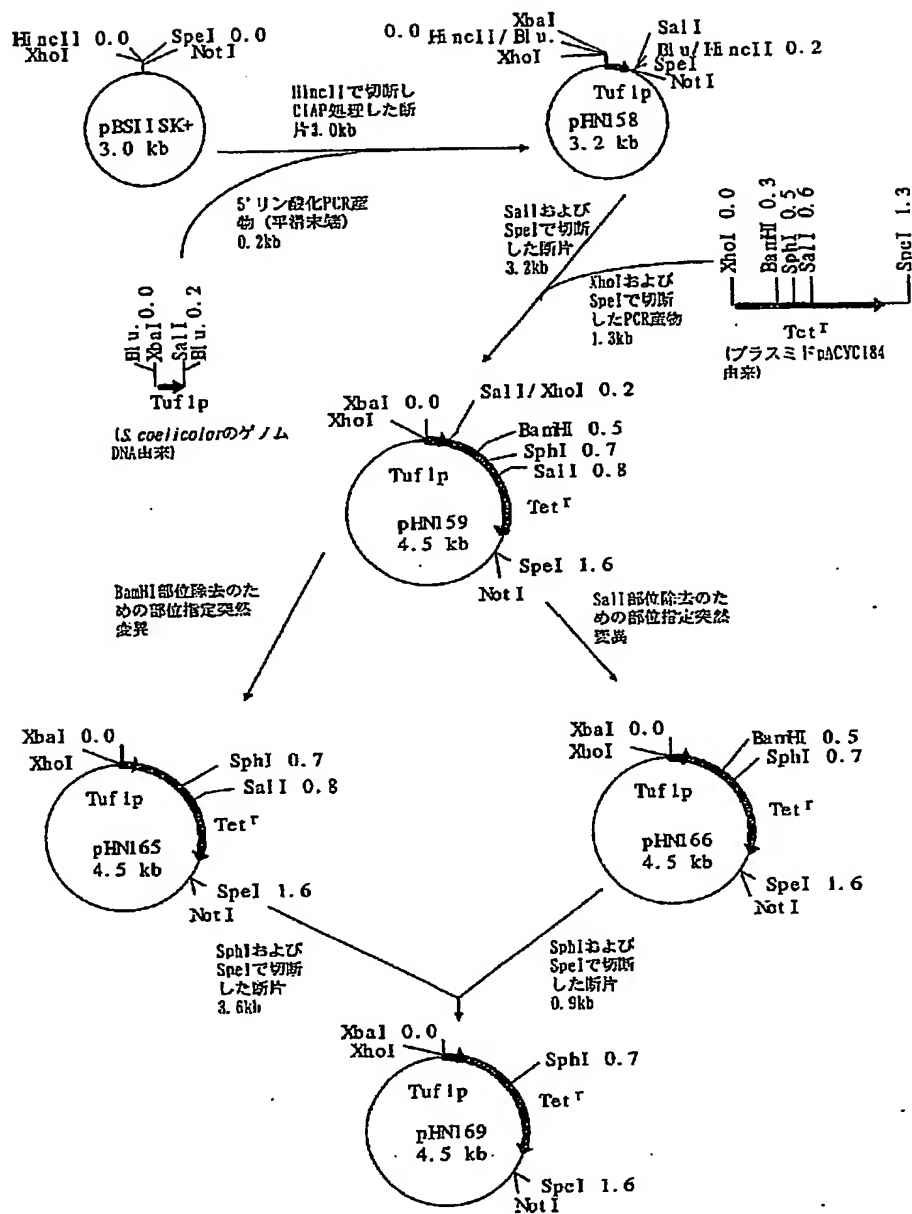
【図2】



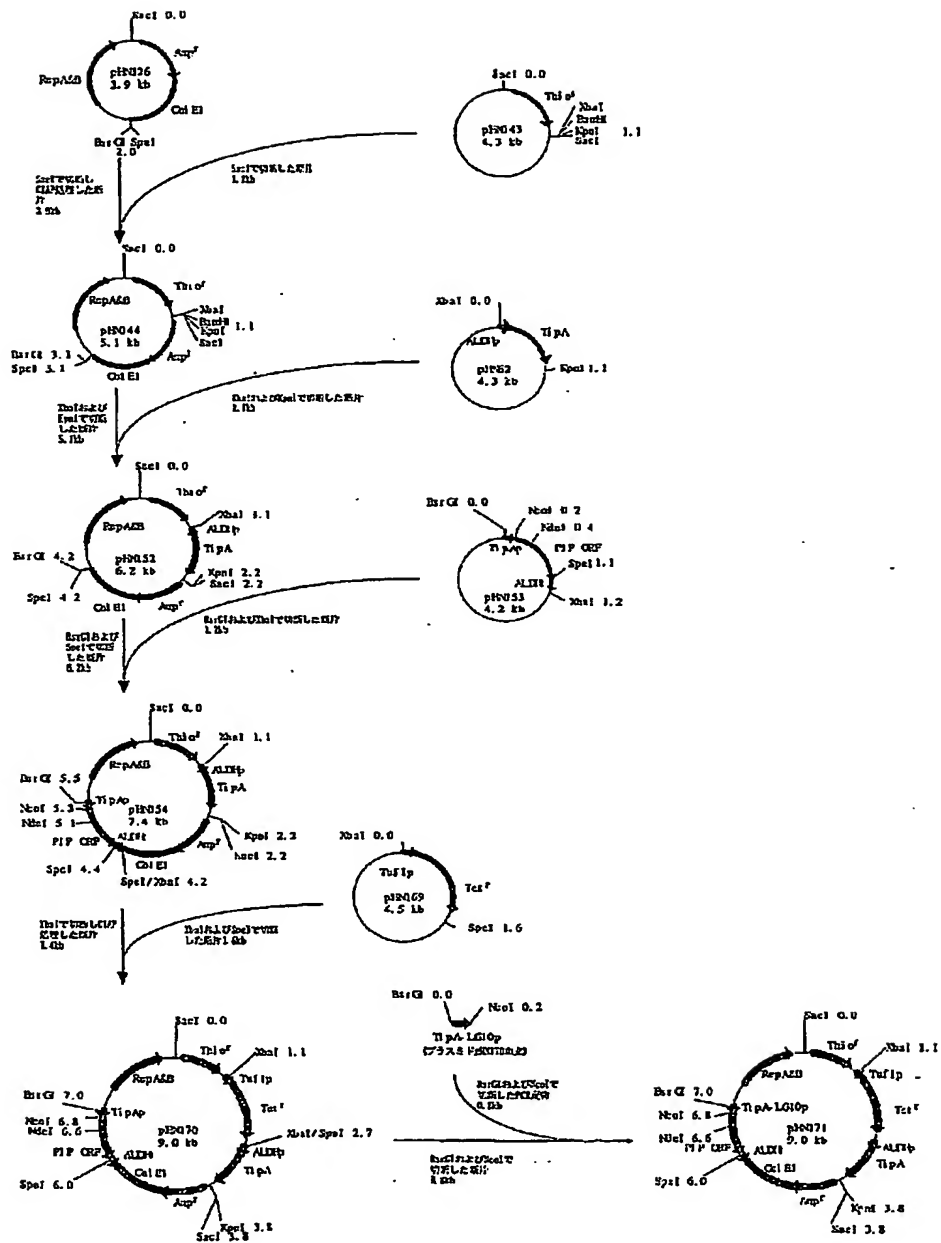
【図 3】



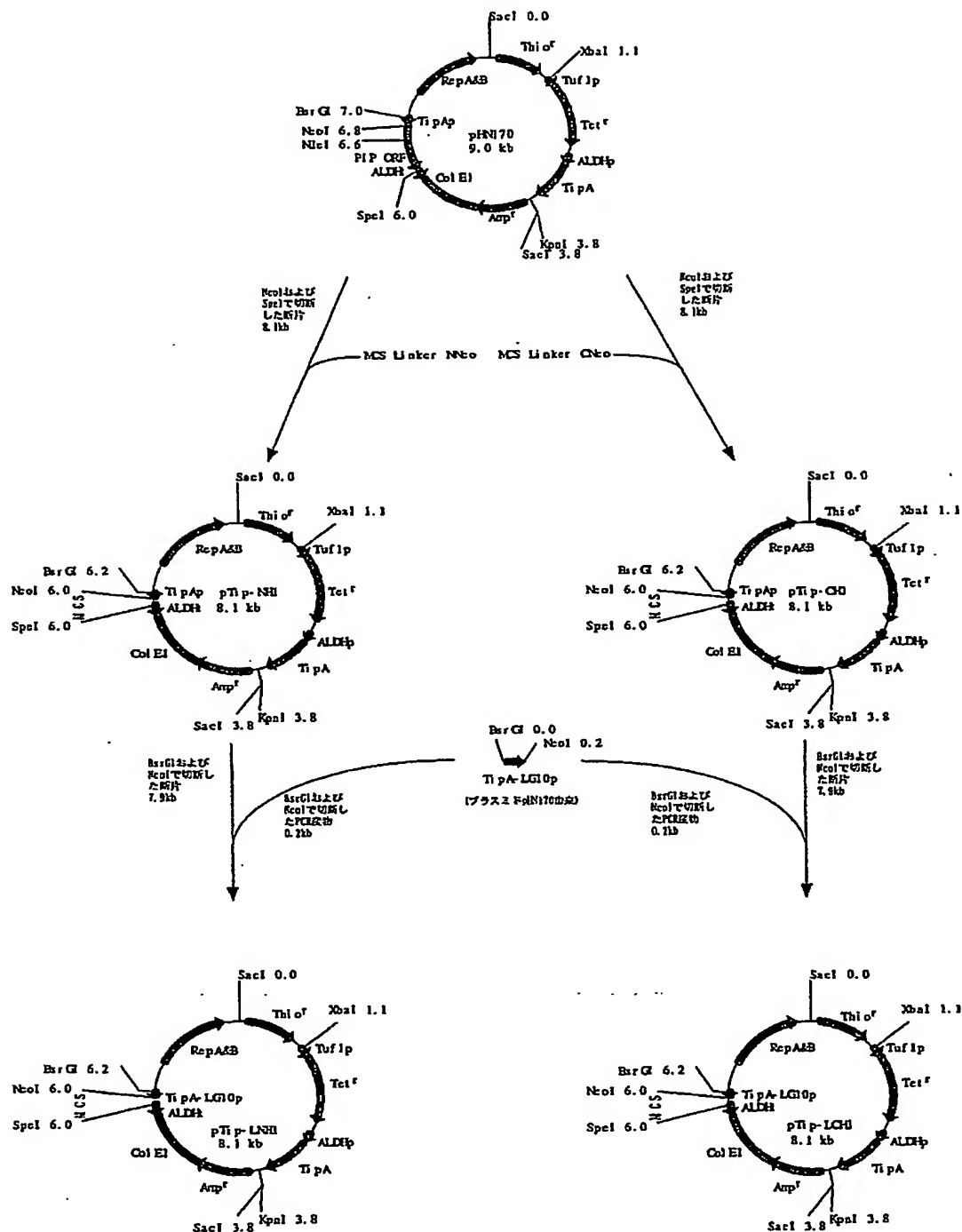
【図5】



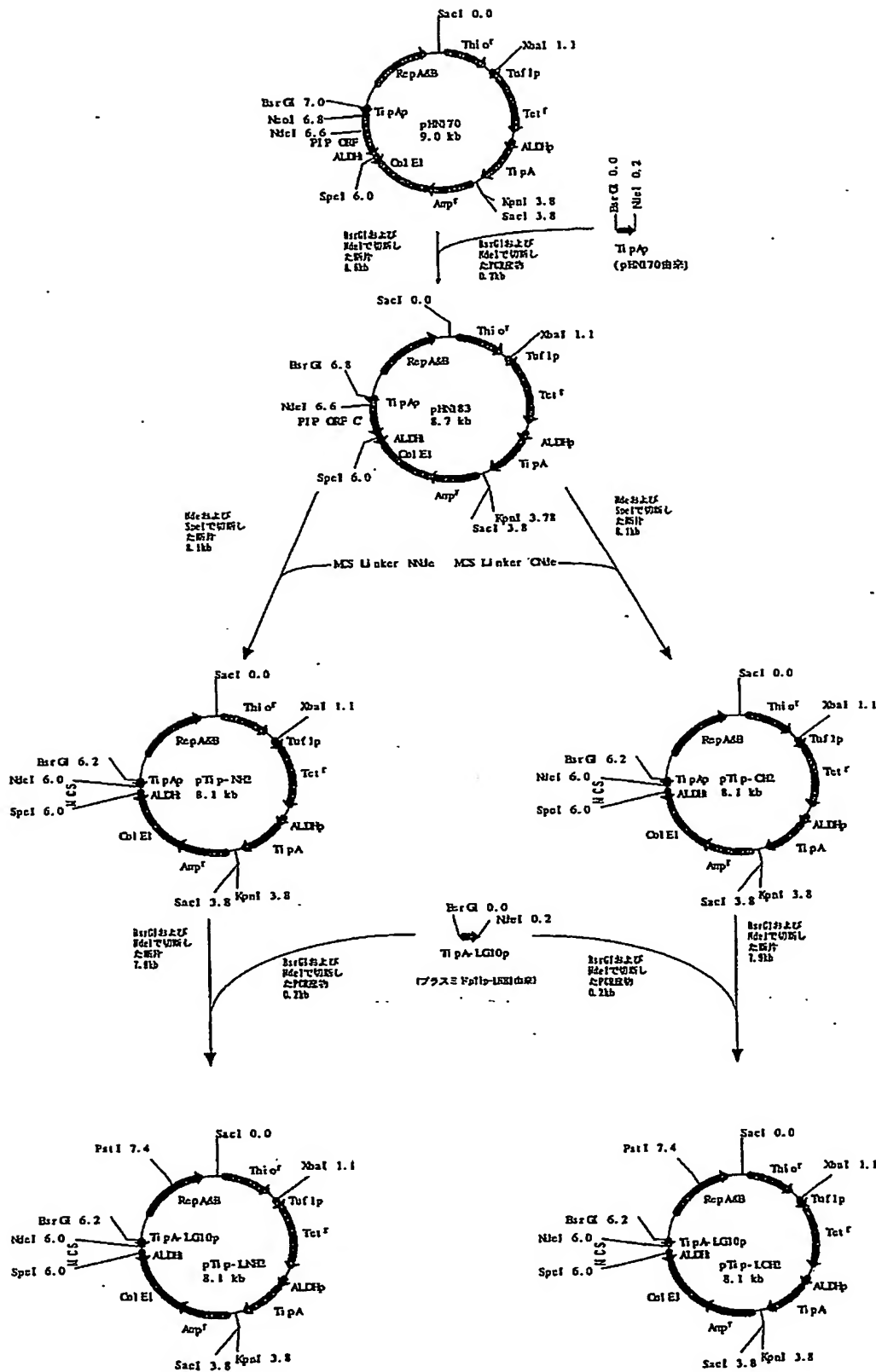
【図 6】



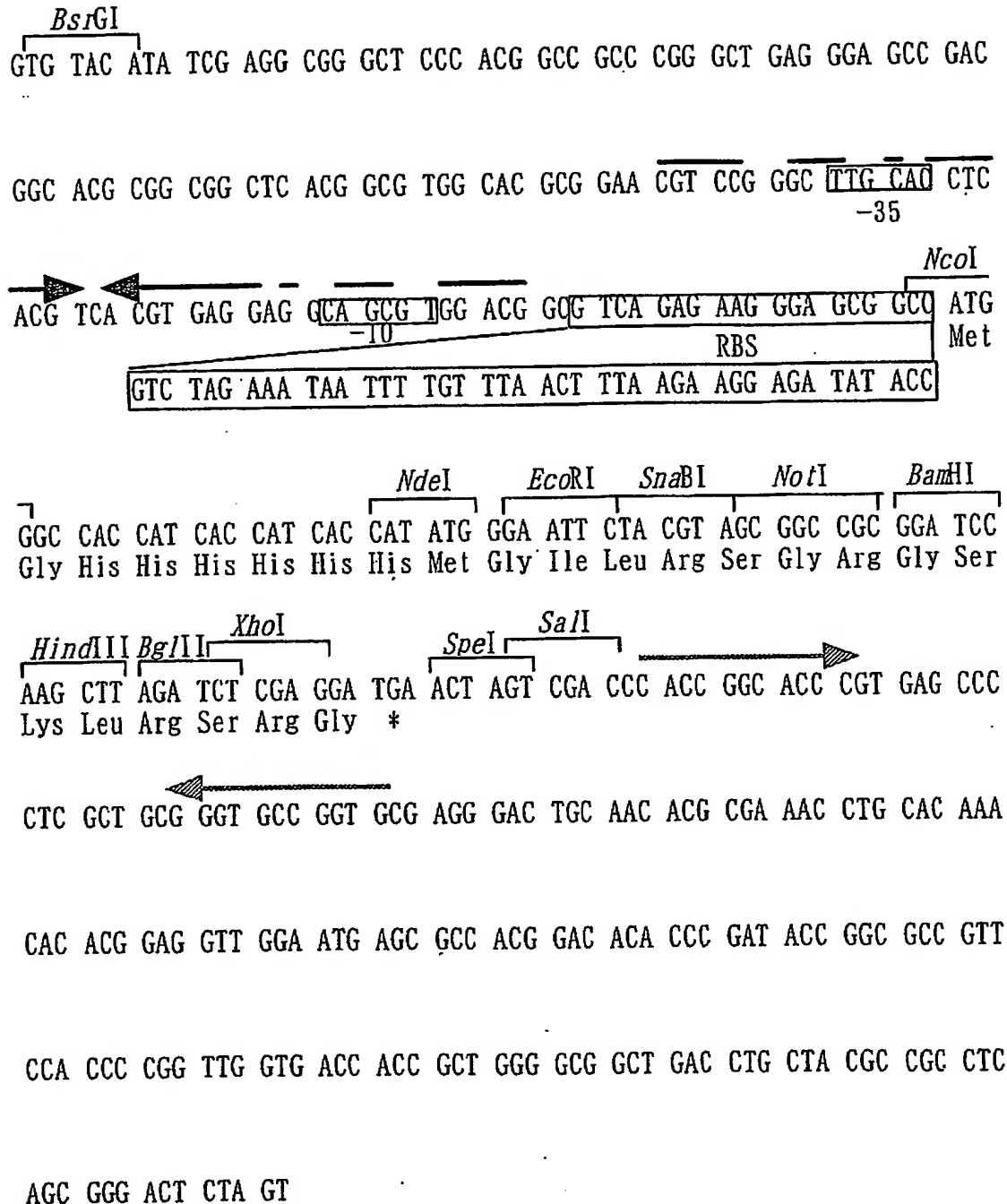
【図7】



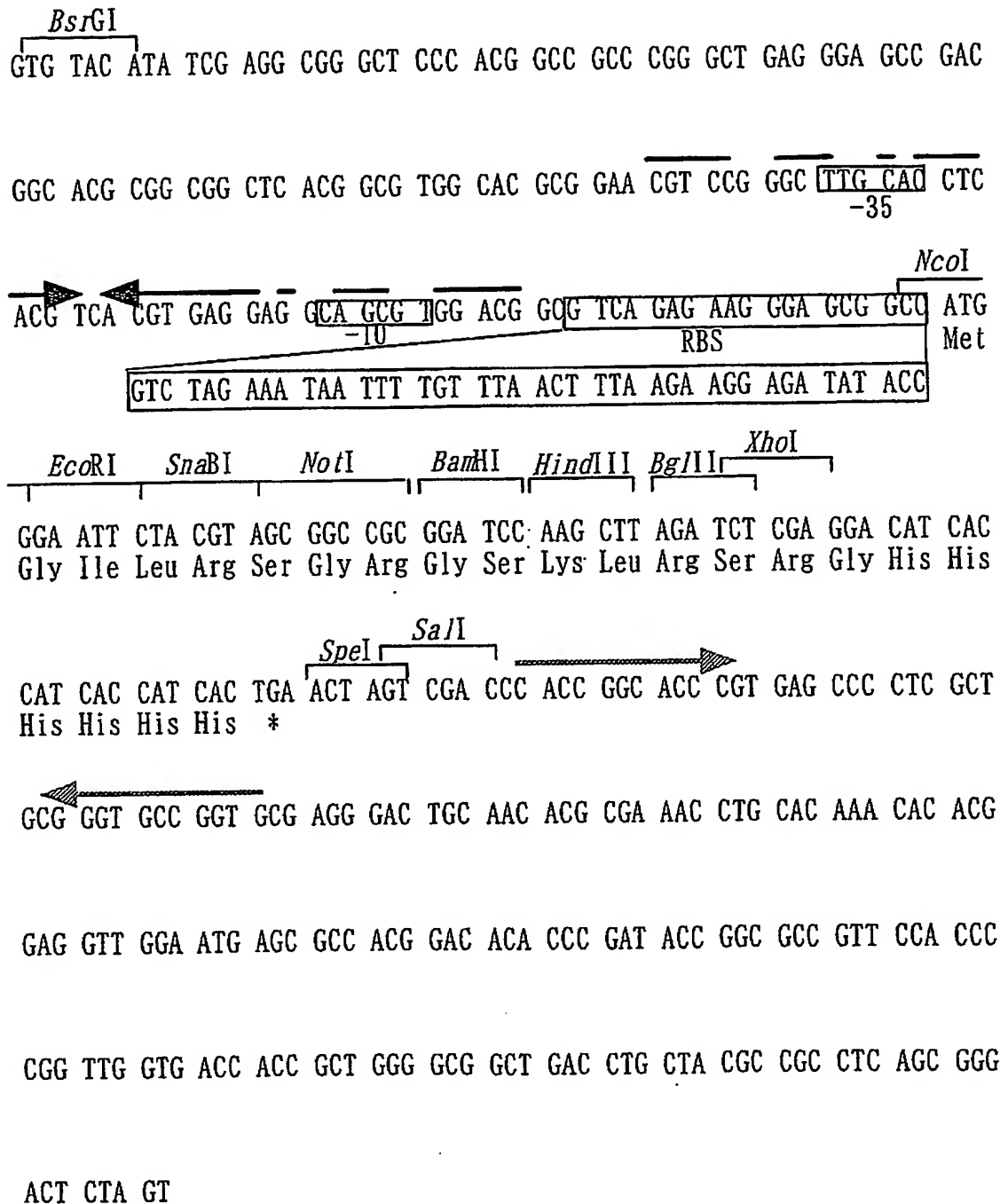
【図8】



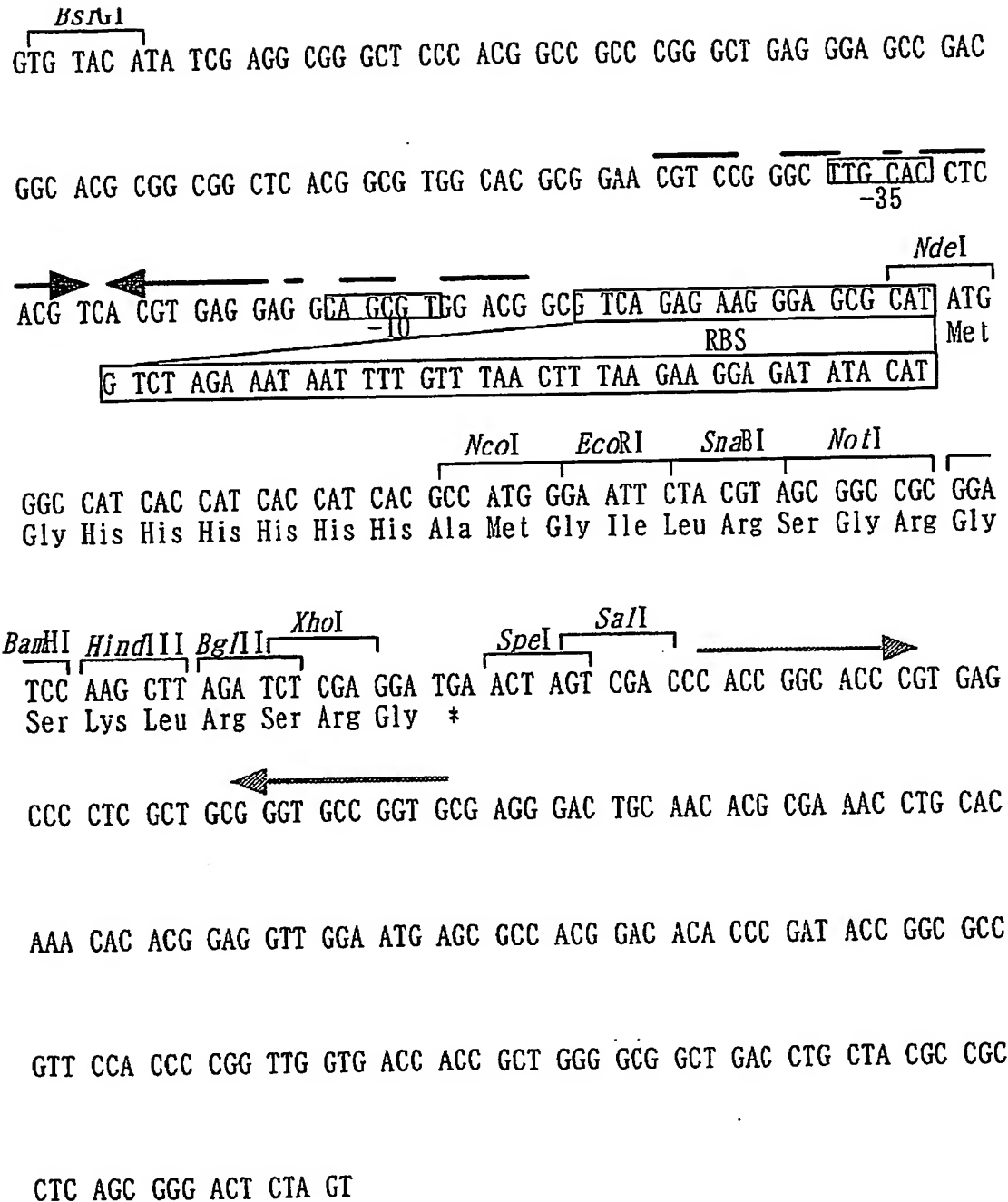
【図 9 b】



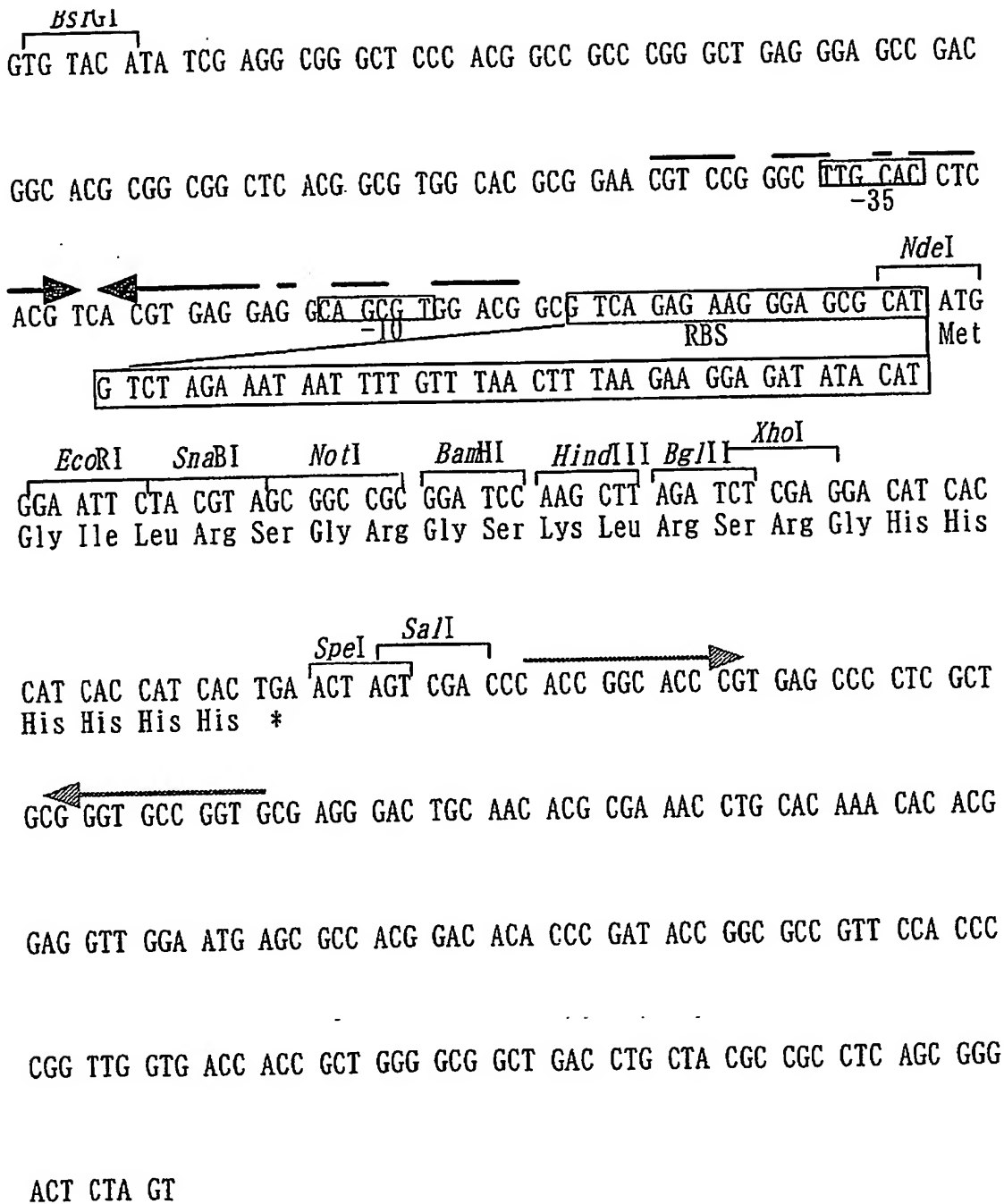
【図 9 c】



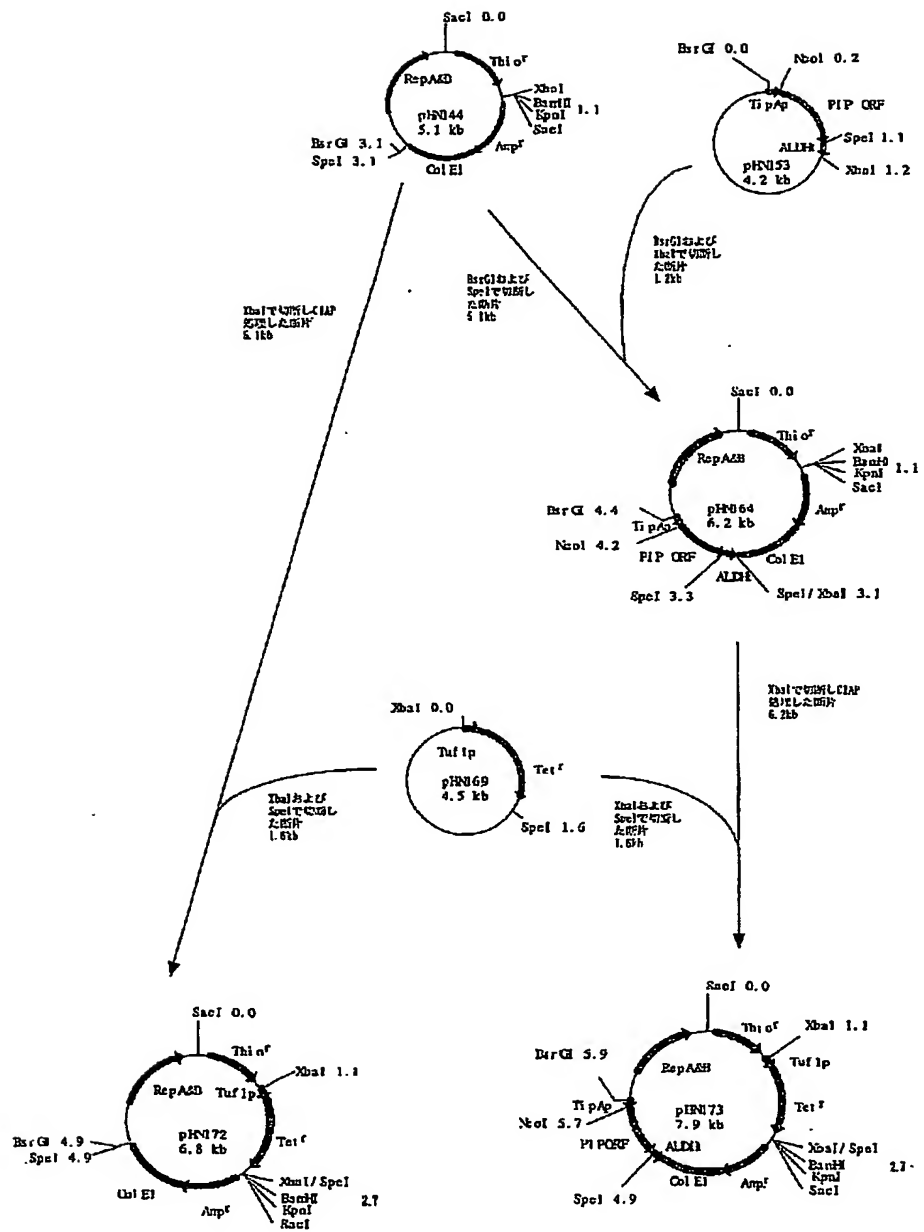
【図 9 d】



【図 9 e】



【図11】



【図 12】

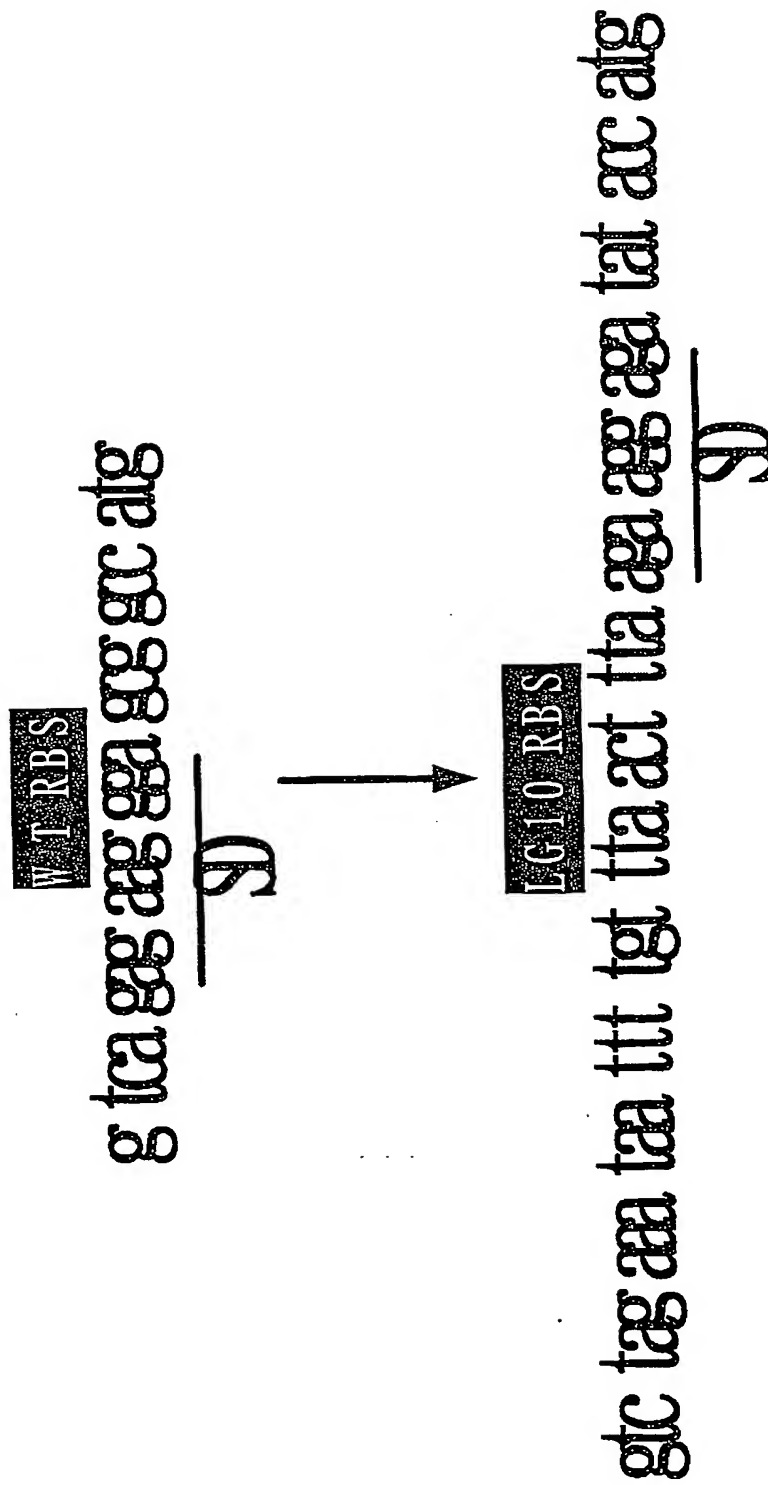
cgccgggtgaggagccgacggcggcggtcac

ggcgtggcacgggaacgtccggctgcacctcacgtc
 -35

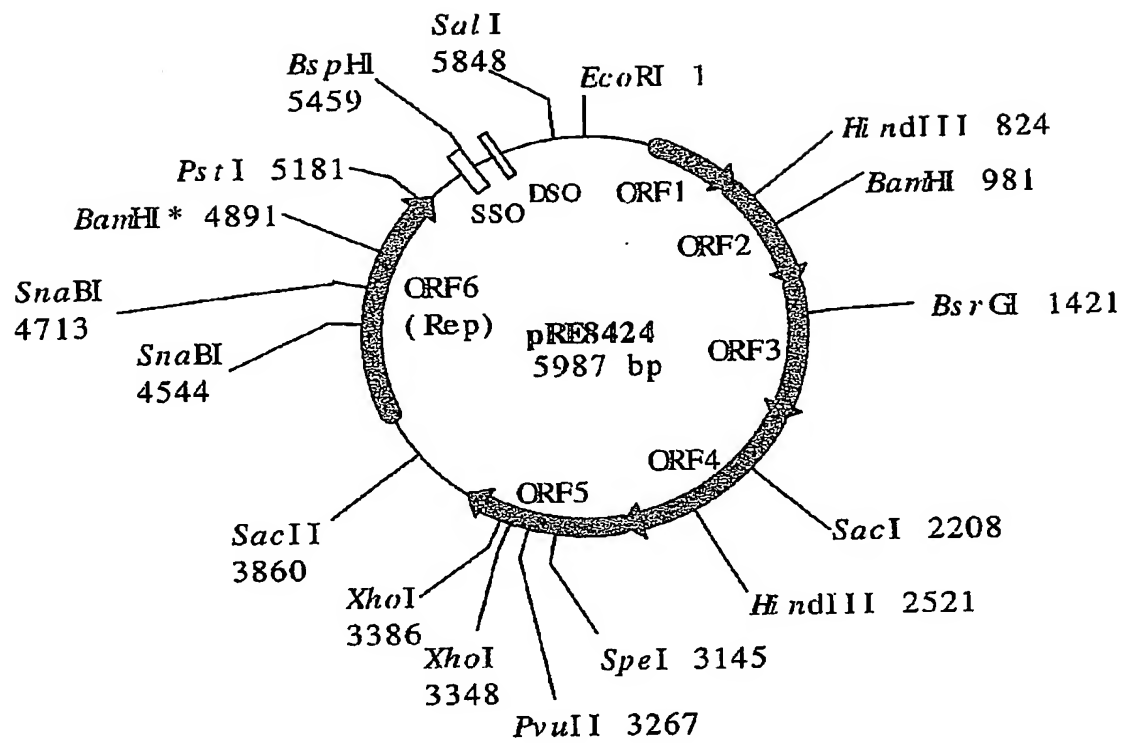
acgtgaggagcagcgtggacggcgtcagagaaggagc
 -10 +1 SD
 RBS

ggccatg

【図 13】



【図 14】



【図 15】

	Motif IV	Motif I	Motif II	Motif III
Consensus	GLXXCGXWCPXC	Xvt XTXRH	g XXg Xx ^a a Xe Xt Xg XXn Gw HXHh Xi X	I a YXXXXqX
pRE8424	68 GLRSCGKGW CPCC	26 M/TMIVRH	33 GCDGYVRAVEI THCK-NGWHVVHALL	53 LAAYLTKI AS
pAPI	138 GLHTCGSVACPVC	27 M.LTLTQRH	33 GLVGYYRANEI THCK-HGWVHSHVLI	67 I GNVS KMQT
pBLI	76 FVGTVRH	34 MFVGTVRH	34 VEHTYSDYEVTDS WA-NGWLHRNMLL	54 NATYLAKGWS
pJVI	38 GLVRCGRIFCPEC	27 LVFTARH	77 GYIGWRAAEVTRSKKNGYPHLNLV	80 LIHYLTKNQD
pIJ101	20 GLMRCCGRILPCPVC	27 LVFTARH	59 GYVGM RATEVTGQI NGWPPI HAI V	69 LAEYIAKTQD
pSN22	20 GLMRCCGRILPCPVC	27 LVFTARH	59 GYVGM RATEVTGQI NGWPPI HAI V	69 LAEYIAKTQD
	** ** *	:...* * : * : :	::*:.*:
	C-terminal motif			
Consensus	WeyEXaXXgr Rai XWkr glr			
pRE8424	276 WREFEFSGMRRAL AWRGLR			
pAPI	365 WKYEKASFGRRALTWSKGLR			
pBLI	250 WREYEVGSKNLR-SWSEGAKE			
pJVI	352 WAQEAEALAGRRAL EWTIRGLR			
pIJ101	288 WHEYERATRGRRAL EWTRYRLR			
pSN22	288 WHEYERATKGRRAL EWTRYRLR			
	* ... *	*	*	:

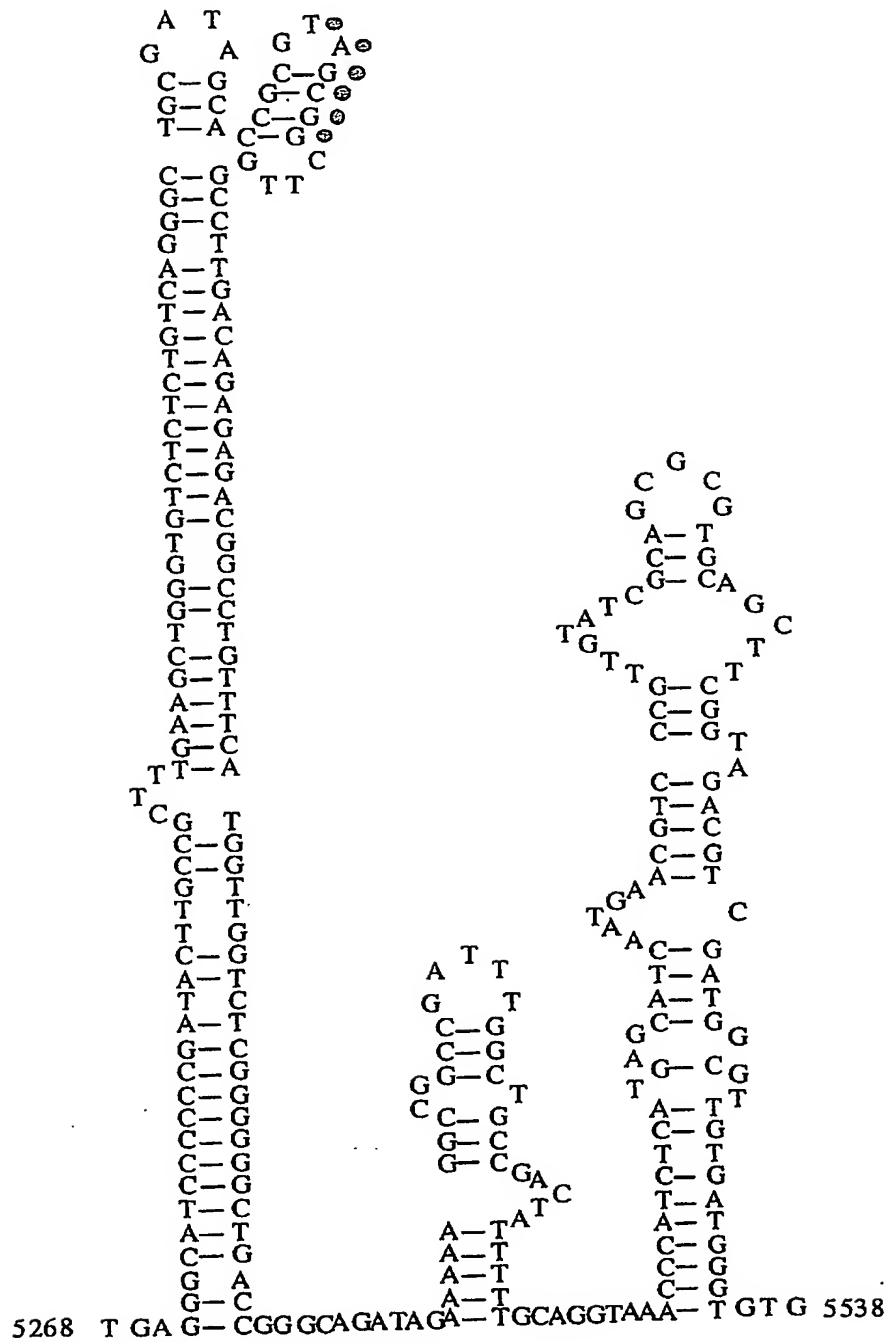
【図 16】

pRE8424	5705	CGAGCGGAGCG-CA-CCCC- AGCTGGGGGAG -
pAPI	2378	CNGCTATGC-C-CA-AACTTT- AGCAACAA -
pBL1	1314	GAAATACAA-CTGA-AGAGCTCTAAGCAACCGCA--
pJVI	3375	CTGCCAANAACCGA- CCCC - AGCT AAAGGTT
pIJ101	1346	GAGCAANA-CCGA-AGAGCT- CGCAAGAAA -
pSN22	7805	GACCCANAACCTCTCCCGCT- CGCAAGAAA -

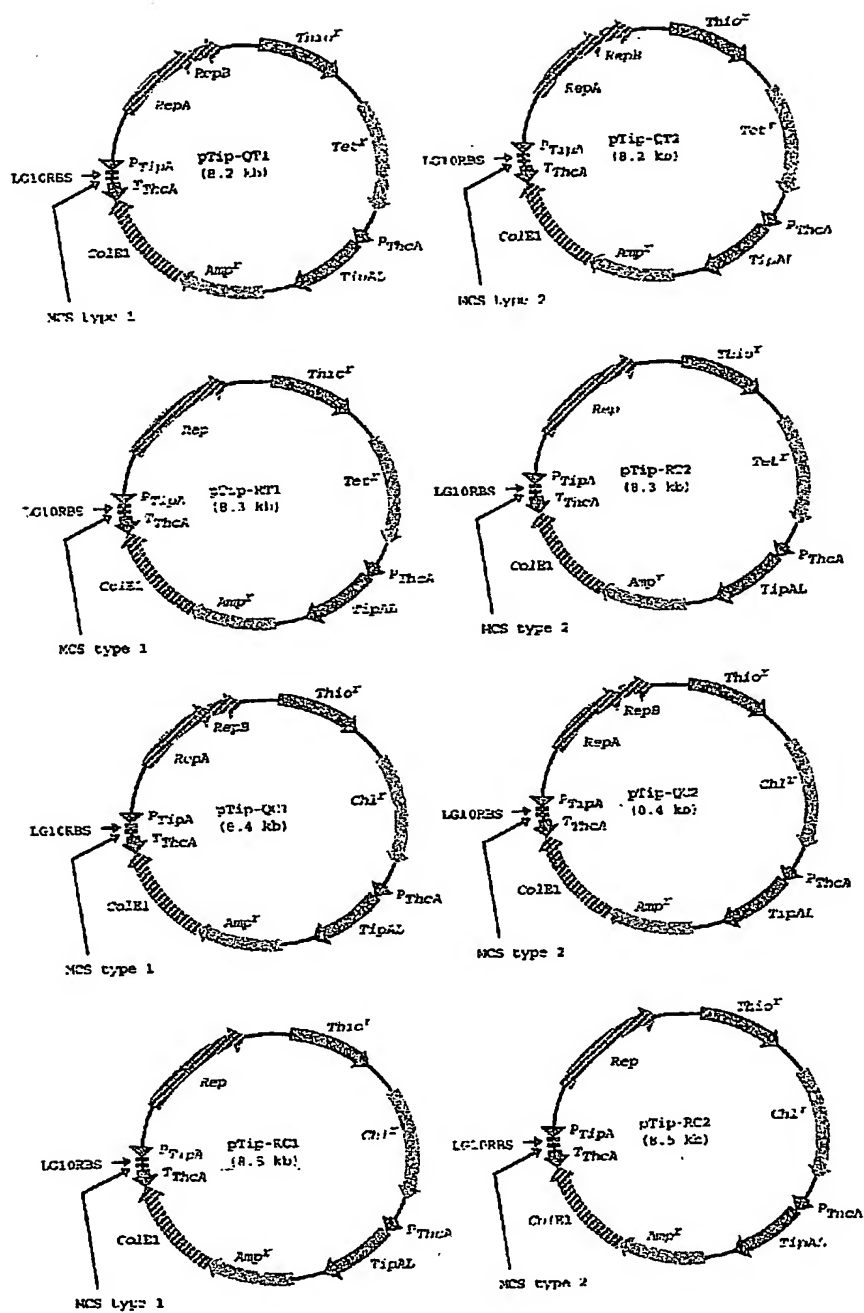
Nicking site

DSO

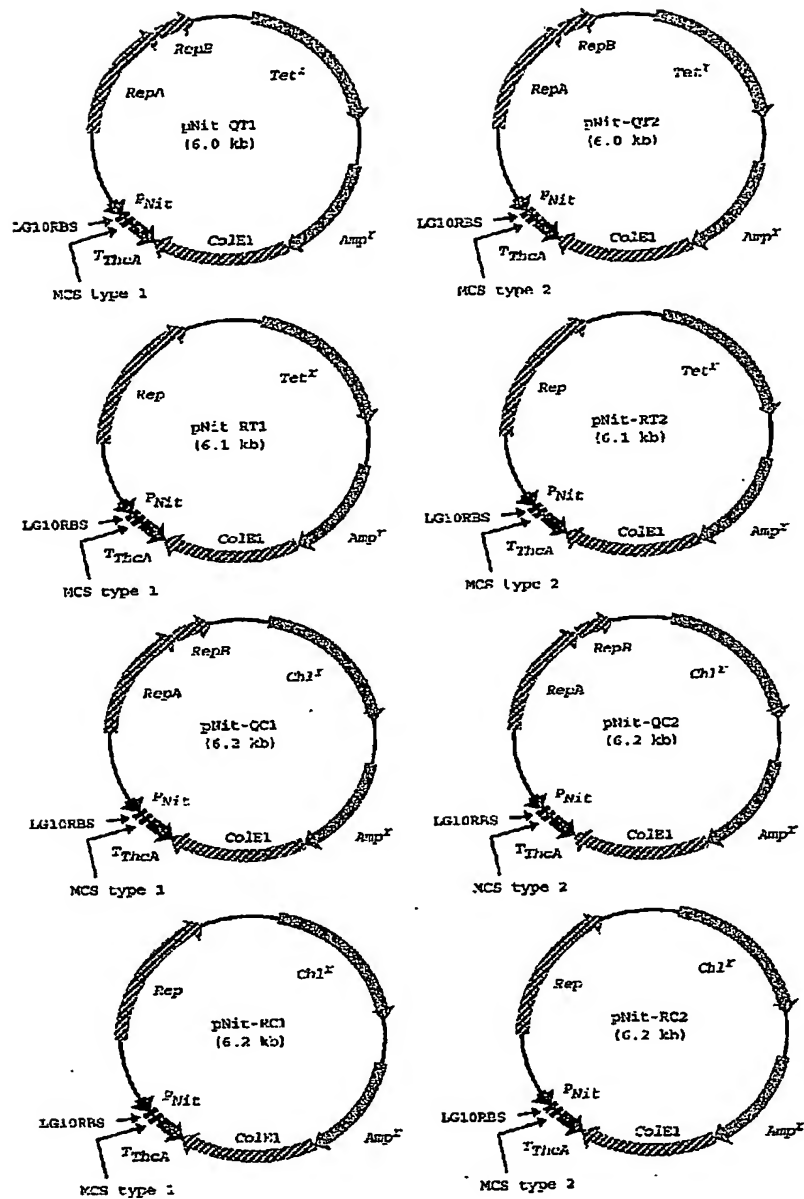
【図 17】



【図18-1】



【図18-2】



Ti pA-LG10p or Nit-LG10p

$R_{17}G$ —————
 TG TAC ATA TGG AGG GGT CCC AGG GGC GGT GAG GCA GGC GAC GGC AGG GAG CTC AUG UUG UUG CAC GGG GAA GTT CCG GGC
 TTG GAG CTC ACG TCA GGT GAG GAG GCA GCG GCG AGG GCG TCT ACA AAT AAT TTT GTT TAA CTT TAA GAA GAA GAT ATA
 TA TAA
 -35
 -10

INDEX

Type 1

[illegible]

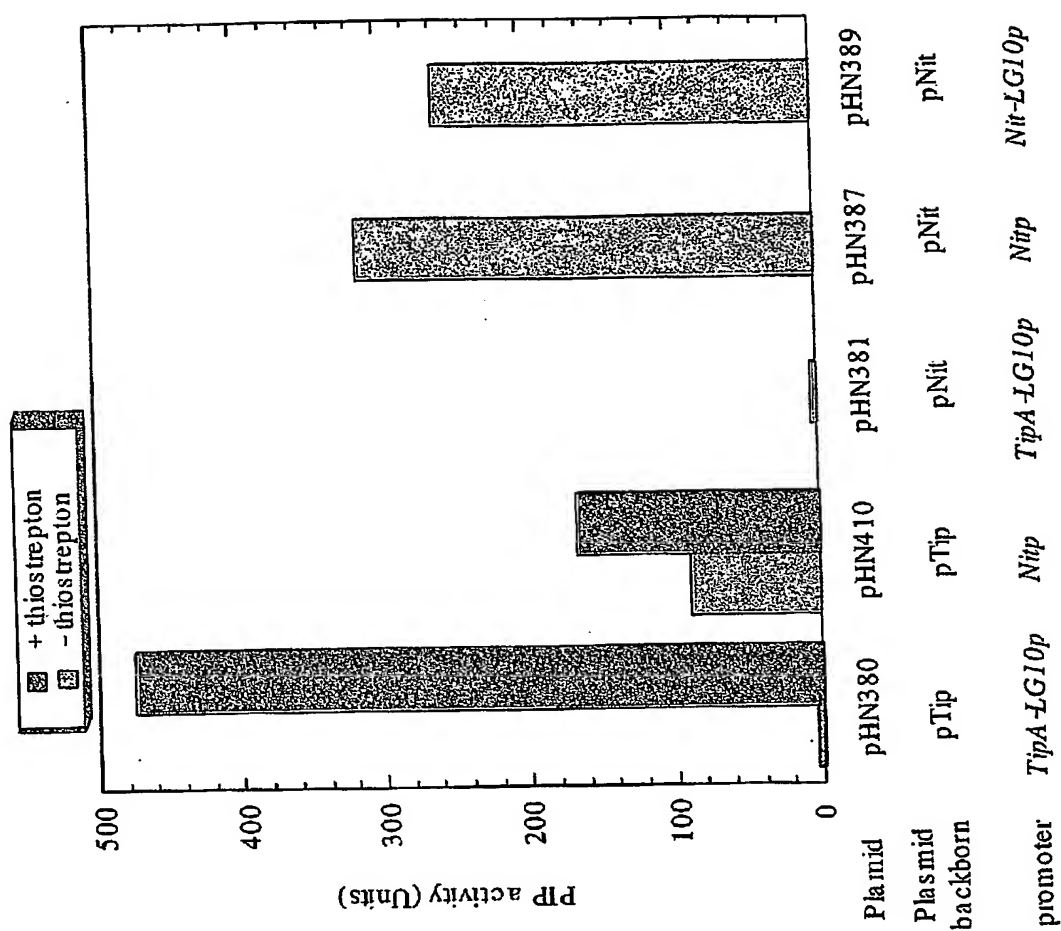
Type 2

[illegible]

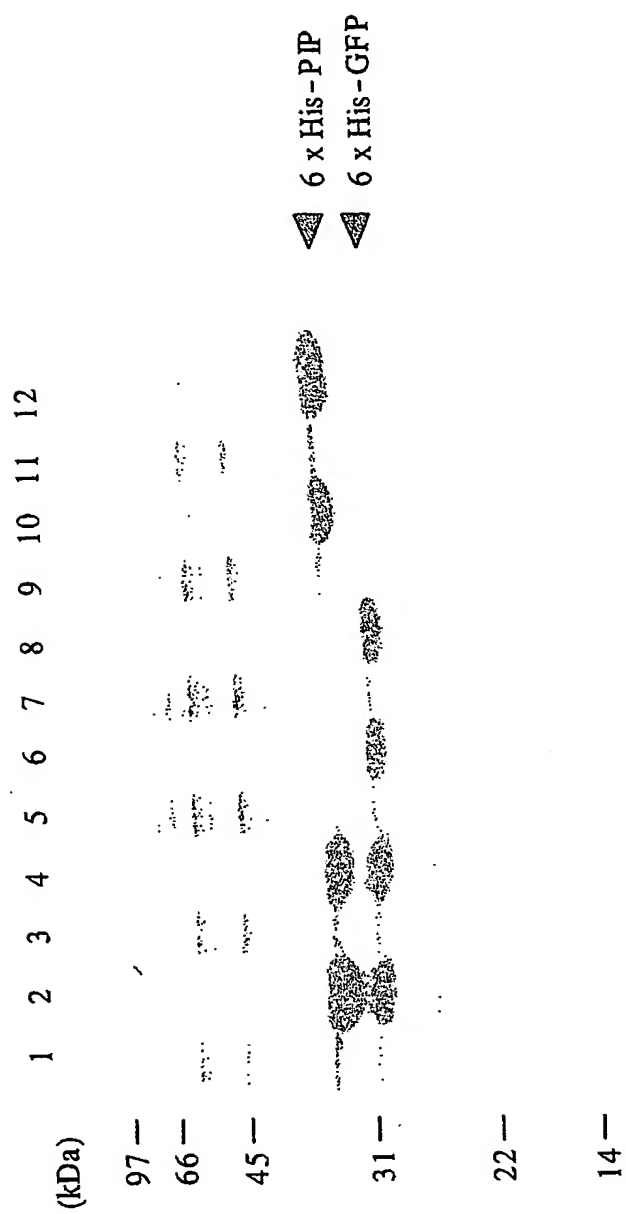
ALDH

[illegible]

【図 20】



【図 21】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 Rhodococcus属細菌中で外来遺伝子を構成的に発現し得る発現ベクターの提供。

【解決手段】 TipA遺伝子プロモーターの-10領域配列に変異を導入したプロモーターであって、チオストレプトン非依存的に構成的に下流に存在する遺伝子を発現し得る変異TipA遺伝子プロモーターの有する塩基配列からなるDNAおよび外来遺伝子を構成的に発現するためのプロモーター配列が請求項1から3のいずれか1項に記載のDNAの有する塩基配列であって、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列を含む、Rhodococcus属細菌用構成型発現ベクター。

【選択図】 なし

特願 2 0 0 3 - 1 1 6 2 8 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[3 0 1 0 2 1 5 3 3]

1. 変更年月日
[変更理由]
住 所
氏 名

2 0 0 1 年 4 月 2 日
新規登録
東京都千代田区霞が関 1 - 3 - 1
独立行政法人産業技術総合研究所

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images
problems checked, please do not report the
problems to the IFW Image Problem Mailbox**